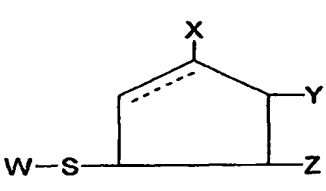




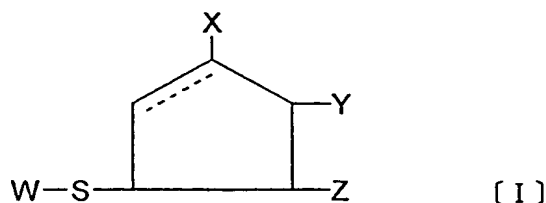
PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C07K 5/027, 1/02, C07C 323/60, 319/18, A61K 31/195</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/11021</p> <p>(43) 国際公開日 2000年3月2日(02.03.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/04324</p> <p>(22) 国際出願日 1999年8月10日(10.08.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/232746 1998年8月19日(19.08.98)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)[JP/JP] 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 小林英二(KOBAYASHI, Eiji)[JP/JP] 〒520-2153 滋賀県大津市一里山6丁目18-19 Shiga, (JP) 大野木宏(OHNOGI, Hiromu)[JP/JP] 〒617-0002 京都府向日市寺戸町渡川16 寶酒造社宅A-406号 Kyoto, (JP) 小山信人(KOYAMA, Nobuto)[JP/JP] 〒611-0042 京都府宇治市小倉町久保96 Kyoto, (JP) 猪飼勝重(IKAI, Katsushige)[JP/JP] 〒520-3332 滋賀県甲賀郡甲南町希望ヶ丘本町9-421-45 Shiga, (JP)</p>		<p>佐川裕章(SAGAWA, Hiroaki)[JP/JP] 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモパレス草津503号 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)[JP/JP] 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: 5-MEMBERED RING COMPOUNDS</p> <p>(54)発明の名称 5員環化合物</p> <div style="text-align: center;">  <p>(I)</p> </div> <p>(57) Abstract 5-Membered ring compounds represented by general formula (I), optically active isomers thereof or salts of the same. These compounds have physiological activities including a carcinostatic effect. In said formula the bond shown by the dotted line in the 5-membered ring represents that this 5-membered ring may be either a cyclopentene ring having a double bond or a saturated cyclopentane ring, and when the 5-membered ring is a cyclopentene ring, X is OR₁, Y is =O and Z is H, and when it is a cyclopentane ring, X is =O, Y is OR₂ and Z is OR₃, (wherein R₁ is R₄ or -(CO)-R₅; R₂ is H, R₆ or -(CO)-R₇; and R₃ is H, R₈ or (CO)-R₉ (wherein R₄, R₅, R₆, R₇, R₈ and R₉ are the same or different and each represents an aliphatic, aromatic or aliphatic aromatic group, and R₅, R₇ and R₉ may be each H), provided that the case where R₂=R₃=H is excluded); and W represents a residue obtained by eliminating SH from an SH-containing compound.</p>		

(57)要約

式〔I〕：



〔式中、5員環内の点線で示した結合子は、当該5員環が、二重結合を有するシクロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいことを意味する。そして、シクロペンテン環の場合、XはOR₁、Yは=O、ZはHであり、他方シクロペンタン環の場合、Xは=O、YはOR₂、ZはOR₃であり、R₁はR₄、又は-(CO)-R₅、R₂はH、R₆、又は-(CO)-R₇、R₃はH、R₈、又は-(CO)-R₉ (R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉は同一であっても異なってもよく脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、R₅、R₇、R₉はHでも良い) を意味する。但し、R₂=R₃=Hの場合を除く。また、WはSH基含有化合物からSH基を除いた残基である。〕

で表される5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩を提供する。これらの化合物は、制がん作用等の生理活性を有する。

PCTに基づいて公開される国際出願のパフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリランカ	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
HA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MC	モナコ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MD	モルドヴァ	TZ	タンザニア
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BY	ベラルーシ	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
CF	中央アフリカ	HR	クロアチア		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	ML	マリ	UA	ウクライナ
CH	スイス	ID	インドネシア	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CI	コートジボアール	IE	アイルランド	MR	モリタニア	US	米国
CM	カメルーン	IL	イスラエル	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CR	コスタリカ	IN	インド	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CU	キューバ	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CY	キプロス	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CZ	チェコ	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
DE	ドイツ	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
DK	デンマーク	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
		KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
		KR	韓国	RO	ルーマニア		

明 細 書

5 員環化合物

5 発明の分野

本発明は、医薬の分野で有用な、制がん作用等の生理活性を有する 5 員環化合物に関し、更に当該化合物の製造方法に関する。

従来の技術

10 従来、临床上の療法に用いられている薬物はアルキル化剤、代謝阻害剤、植物アルカロイド等の制がん剤、抗生物質、免疫促進剤、免疫調節剤など多岐にわたっているが、これらの薬物療法はいまだ完成したとはいいいがたい。

これらのうち、天然物由来であるプロスタグランジンの中で、5 員環に α , β ー不飽和カルボニルを有するプロスタグランジン A 及び J 類が DNA 合成を抑制
15 することにより、安全性の高い制がん剤としての可能性が報告され、それらの各種誘導体が合成されている（特開昭 6 2 - 9 6 4 3 8 号公報参照）。

発明の目的

本発明の主な目的は、制がん作用等の生理作用を有する化合物を開発し、該化
20 合物の製造方法及び当該化合物を含有する医薬を提供することにある。

本発明のこの目的及び他の目的並びに本発明の利点を、添付の図面を参照し、以下の説明で明らかにする。

図面の簡単な説明

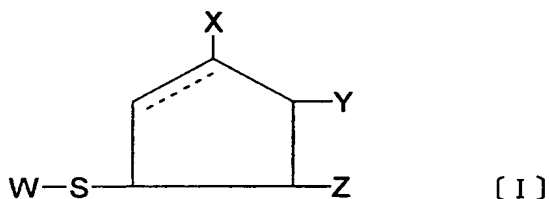
- 25 図 1 は、ヘキサノイル GM の ^1H -NMR スペクトルを示す図である。
図 2 は、ヘキサノイル GM の ^{13}C -NMR スペクトルを示す図である。
図 3 は、ヘキサノイル GM のマススペクトルを示す図である。
図 4 は、ヘキサノイル GM の UV 吸収スペクトルを示す図である。
図 5 は、ヘキサノイル GM の IR 吸収スペクトルを示す図である。

図6は、ジ-*t*-ブチルGDのマススペクトルを示す図である。

図7は、ジ-*t*-ブチルGDの¹H-NMRスペクトルを示す図である。

発明の概要

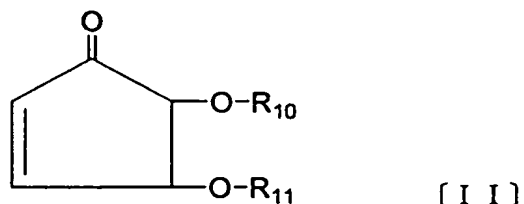
- 5 本発明者らは、下記式〔I〕で表される化合物（以下、単に本発明の化合物と称す）が、式〔I I〕で表される化合物とSH基含有化合物との反応により生成し、この本発明の化合物が種々の強い生理活性を有し、該化合物に感受性を示す疾患の治療用及び／又は予防用の医薬として有用であることを見出し、本発明を完成するに至った。
- 10 本発明を概説すれば本発明の第1の発明は、下記式〔I〕で表される5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩に関する。



- 〔式中、5員環内の点線で示した結合子は、当該5員環が、二重結合を有するシクロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいことを意味する。そして、シクロペンテン環の場合、XはOR₁、Yは=O、ZはHであり、他方シクロペンタン環の場合、Xは=O、YはOR₂、ZはOR₃であり、R₁はR₄、又は-(CO)-R₅、R₂はH、R₆、又は-(CO)-R₇、R₃はH、R₈、又は-(CO)-R₉（R₄、R₅、R₆、R₇、R₈、R₉は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、R₅、R₇、R₉はHでも良い）を意味する。但し、R₂=R₃=Hの場合を除く。また、WはSH基含有化合物からSH基を除いた残基である。〕
- 15
- 20

- 本発明の第2の発明は、下記式〔I I〕で表される化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物と、SH基含有化合物とを反応させることを特徴とする上記式〔I〕で表される5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法に関する。
- 25

3

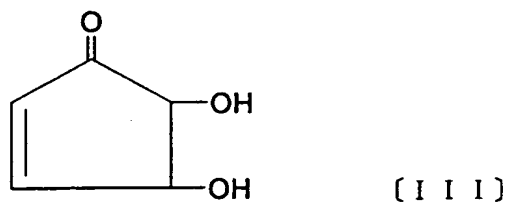


〔式中、 R_{10} はH、 R_{12} 、又は $-(CO)-R_{13}$ 、 R_{11} はH、 R_{14} 、又は $-(CO)-R_{15}$ (R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_{13} 、 R_{15} はHでも良い) を意味する。但し、 $R_{10}=R_{11}=H$ の場合を除く。〕

本発明の第3の発明は、本発明の第1の発明の5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分として含有することを特徴とする医薬、例えば、制がん剤、アポトーシス誘発剤に関する。

発明の詳細な説明

本発明において使用する式〔I I〕で表される化合物は、特に限定するものではないが、例えば、下記式〔I I I〕で表される4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン（以下、単にシクロペンテノンと称す）を原料として化学合成法によって得ることができる。



本発明において使用するシクロペンテノンは4位と5位のヒドロキシル基の立体配置がシスの異性体とトランスの異性体の双方を包含する。本発明においてはシス体シクロペンテノンを用いてもよいし、トランス体シクロペンテノンを用いてもよいし、シス体シクロペンテノンとトランス体シクロペンテノンの混合物を

用いてもよい。また、これらの光学活性体を用いてもよい。

シス体シクロペンテノン⁵は化学合成法によって得られる〔ヘルベチカ キミカ
アクタ (H e l v e t i c a C h i m i c a A c t a)、第55巻、第28
38～2844頁(1972)〕。トランス体シクロペンテノンは化学合成法に
よっても得られるし〔カーボハイドレート リサーチ (C a r b o h y d r a t
e R e s.)、第247巻、第217～222頁(1993)〕、また、ウロ
ン酸、例えば、グルクロン酸、ウロン酸誘導体、例えば、グルクロノラクトン等
を加熱処理することによっても得られる(WO98/13328号公報参照)。

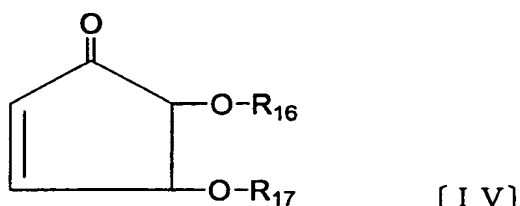
例えば、ウロン酸としてD-グルクロン酸を使用し、その1%溶液を121℃
10 で4時間加熱処理することにより、加熱処理物中にシクロペンテノンが生成され
る。この加熱処理物中のシクロペンテノンを溶媒で抽出し、抽出物を濃縮する。
次にこの濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、溶出するシク
ロペンテノン画分を濃縮し、濃縮物からシクロペンテノンをクロロホルムで抽出
し、抽出濃縮物の順相カラムクロマトグラフィーを行うことにより、加熱処理物
15 中のシクロペンテノンが単離される。

単離されたシクロペンテノンを光学分割することにより、光学活性体として
(-) - 4, 5 - ジヒドロキシ - 2 - シクロペンテン - 1 - オン及び (+) - 4,
5 - ジヒドロキシ - 2 - シクロペンテン - 1 - オンを得ることができる。当然、
合成方法により得られたシクロペンテノンも光学分割することができる。

20 例えば、シクロペンテノンをエタノールに溶かす。このエタノール溶液にヘキ
サン/エタノール (94/6) を更に加え、シクロペンテノン溶液を調製する。この
試料溶液を、例えば、キラールパック AS (ダイセル化学工業) カラムを用い
カラム温度: 40℃、移動相: ヘキサン/エタノール (94/6) でHPLCを行う
ことにより、シクロペンテノンを光学分割することができる。

25 シクロペンテノン及び/又はその光学活性体と、水素、脂肪族基、芳香族基又
は芳香脂肪族基を有するカルボン酸及び/又はその反応性誘導体とを、同時又は
順次反応させることにより、反応液中に下記式〔IV〕で表される化合物又はそ
の光学活性体が生成する。

5



〔式中、 R_{16} はH、又は $-(CO)-R_{18}$ 、 R_{17} はH、又は $-(CO)-R_{19}$ であり、 R_{18} 、 R_{19} は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基である。但し、 $R_{16}=R_{17}=H$ の場合を除く。〕

- 5 本発明において使用する、式〔I V〕で表される化合物の R_{18} 、 R_{19} に相当する、水素、脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基を有するカルボン酸は次の通りである。

水素を有するカルボン酸としては、ギ酸を使用できる。

- 10 脂肪族基を有するカルボン酸としては、アルキル基を有するカルボン酸、アルケニル基を有するカルボン酸を使用することができる。

アルキル基を有するカルボン酸としては、直鎖又は分枝のアルキル基を有するカルボン酸が使用でき、アルキル鎖の鎖長は本発明の化合物の生物活性、溶解性等より適宜選択することができるが、通常、C1～30が好ましい。

- 15 直鎖アルキル基を有するカルボン酸としては、例えば、酢酸、プロピオン酸、酪酸、吉草酸、ヘキサン酸、ヘプタン酸、 n -オクタン酸、ペラルゴン酸、 n -デカン酸、ウンデカン酸、ラウリン酸、トリデカン酸、ミリスチン酸、ペンタデカン酸、パルミチン酸、ヘプタデカン酸、ステアリン酸、ノナデカン酸、イコサン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸、セロチン酸、メリシン酸等が使用できる。

- 20 分枝アルキル基を有するカルボン酸としては、例えば、イソ酪酸、イソ吉草酸、2-メチル酪酸、ピバル酸、4-メチル吉草酸、1,2-ジメチル吉草酸等が使用できる。

- 25 アルケニル基を有するカルボン酸としては、直鎖又は分枝のアルケニル基を有するカルボン酸が使用でき、アルケニル基の鎖長、不飽和度、不飽和結合の位置は本発明の化合物の生物活性、溶解性等より適宜選択することができるが、通常、C2～30のアルケニル基が好ましい。

直鎖アルケニル基を有するカルボン酸としては、例えば、アクリル酸、ビニル

酢酸、クロトン酸、イソクロトン酸、アリル酢酸、2-ヘキセン酸、3-ヘキセン酸、3-オクテン酸、オブツシル酸、10-ウンデセン酸、パルミトレイン酸、ペトロセリン酸、エライジン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、 γ -リノレン酸、エレオステアリン酸、イコサトリエン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ブラシジン酸、エルカ酸、ドコサヘキサエン酸、キシメン酸、21-トリアコンテン酸等が使用できる。

分枝アルケニル基を有するカルボン酸としては、例えば、メタクリル酸、チグリン酸、アングリカ酸、 α -エチルクロトン酸等が使用できる。

置換基を有する脂肪族基を有するカルボン酸としては、C1~4の低級アルコキシ基を置換基として有するアルキル基を有するカルボン酸、例えば、メトキシ酢酸を使用することができる。また、C2~5の低級アルコキシカルボニルを置換基として有するアルケニル基を有するカルボン酸、例えば、メチルマレイン酸を使用することができる。

芳香族基を有するカルボン酸としては、例えば、C6~11のアリール基を有するカルボン酸、例えば、安息香酸、トルイル酸、クロロ安息香酸、プロモ安息香酸、ニトロ安息香酸、フタル酸、イソフタル酸、テレフタル酸、サリチル酸、アセチルサリチル酸、アセチルサリチルサリチル酸、アミノサリチル酸、p-ヒドロキシ安息香酸、アミノ安息香酸、メトキシ安息香酸、アセトアミド安息香酸、バニリン酸、オルセリン酸、ナフトエ酸、シンコメロン酸、キサツレン酸、キノン酸、キヌレン酸等が使用できるが、本発明の化合物の生物活性、溶解性等より使用する芳香族基を有するカルボン酸を選択すればよい。

芳香脂肪族基を有するカルボン酸としては、例えば、C1~30アルキルC6~10アリール基を有するカルボン酸、例えば、フェニル酢酸、フェニルプロピオン酸、フェニル乳酸、フェニルピルビン酸、ケイ皮酸、アトロパ酸、ナフチル酢酸等が使用できるが、本発明の化合物の生物活性、溶解性等より、使用する芳香脂肪族基を有するカルボン酸を選択すればよい。

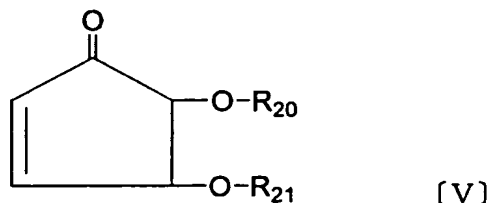
かくして、本明細書における脂肪族基としては、例えば、C1~30の直鎖または分枝鎖のアルキル基、C2~30の直鎖または分枝鎖のアルケニル基が挙げられ、芳香族基としては、例えば、C6~11のアリール基が挙げられ、芳香脂

肪族基としては、例えば、C 1～30アルキルC 6～10アリール基が挙げられる。これらの基は、C 1～4のアルコキシ基、C 2～5のアルコキシカルボニル基、ハロゲン（例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素）、アミノ基、水酸基、ニトロ基、オキソ基、チオール基、硫酸基等の官能性基等からなる群から選ばれる置換基を1個以上有していてもよい。

カルボン酸の反応性誘導体としては、酸ハライド、酸無水物、酸エステル、塩等が例示され、目的に応じ、使用するカルボン酸の反応性誘導体を作製すれば良い。

カルボン酸及び／又はその反応性誘導体とシクロペンテノンとの反応は式〔I V〕で表される化合物の R_{16} 、 R_{17} が同一になるように行っても良く、 R_{16} 、 R_{17} のどちらか一方が未反応のHであるように行っても良く、 R_{16} 、 R_{17} が異なるように行っても良い。すなわちシクロペンテノンの2個のヒドロキシル基を共に反応させても良く、どちらか1個だけを反応させても良い。また R_{18} 、 R_{19} が異なるカルボン酸及び／又はその反応性誘導体を同時にシクロペンテノンと反応させても良く、順次 R_{18} 、 R_{19} が異なるカルボン酸及び／又はその反応性誘導体を反応させても良い。このときシクロペンテノンの水酸基の片方を保護することにより、効率よく、 R_{18} 、 R_{19} が異なる化合物、又は R_{16} 、 R_{17} のどちらか一方だけがエステル化された化合物を作製することができる。

シクロペンテノン及び／又はその光学活性体と、脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基を有するアルコール及び／又はその反応性誘導体とを、同時又は順次反応させることにより、反応液中に下記式〔V〕で表される化合物又はその光学活性体が生成する。



〔式中、 R_{20} 、 R_{21} は同じであっても異なってもよく、水素、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基である。但し、 $R_{20} = R_{21} = H$ を除く。〕

本発明において使用する、式〔V〕で表される化合物の R_{20} 、 R_{21} に相当する、

脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基とは上記のとおりであり、これらの基を有するアルコールとしては、例えば、次のものが挙げられる。

脂肪族基を有するアルコールとしては、アルキル基を有するアルコール、アルケニル基を有するアルコールを使用することができる。

- 5 アルキル基を有するアルコールとしては、直鎖又は分枝のアルキル基を有するアルコールが使用でき、アルキル基の鎖長は本発明の化合物の生物活性、溶解性等より適宜選択することができる。

10 直鎖アルキル基を有するアルコールとしては、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、ペンタノール、ヘキサノール、ヘプタノール、オクタノール、ノナノール、デカノール、ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、パルミチルアルコール、ステアシルアルコール等が使用できる。

分枝アルキル基を有するアルコールとしては、例えばイソブチルアルコール、*t*-ブチルアルコール、イソアミルアルコール、*t*-アミルアルコール等が使用できる。

- 15 アルケニル基を有するアルコールとしては、直鎖又は分枝のアルケニル基を有するアルコールが使用でき、アルケニル基の鎖長、不飽和度、不飽和結合の位置は本発明の化合物の生物活性、溶解性等より適宜選択することができる。

20 直鎖アルケニル基を有するアルコールとしては、例えば、ビニルアルコール、アリルアルコール、クロトンアルコール、3-ヘキセン-1-オール等が使用できる。

分枝アルケニル基を有するアルコールとしては、例えば、ゲラニオール、ファルネソール、ゲラニルゲラニオール、レチノール、リナロオール、ネロリドール、ネロール等が使用できる。

- 25 芳香族基を有するアルコールとしては、例えば、フェノール、クレゾール、ニトロフェノール、クロロフェノール、ブロモフェノール、カテコール、レゾルシノール、ヒドロキノン、ナフトール等が使用できるが、本発明の化合物の生物活性、溶解性等より使用する芳香族基を有するアルコールを選択すればよい。なお、本明細書では芳香族基に水酸基が直接結合した上記化合物もアルコールに分類する。

芳香脂肪族基を有するアルコールとしては、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、フェナシルアルコール、スチレングリコール、フェニルプロパノール等が使用できるが、本発明の化合物の生物活性、溶解性等より使用する芳香脂肪族基を有するアルコールを選択すればよい。

- 5 アルコールの反応性誘導体としては、ハロゲン化アルキル、ハロゲン化アリー
ル、酸エステル、ジアゾ化合物、塩、アルコールの脱水物であるアルケン等が例
示され、目的に応じ、使用するアルコールの反応性誘導体を作製すれば良い。

- アルコール及び／又はその反応性誘導体とシクロペンテノンとの反応は式
[V] で表される化合物の R_{20} 、 R_{21} が同一になるように行っても良く、 R_{20} 、
10 R_{21} のどちらか一方が未反応のHであるように行っても良く、 R_{20} 、 R_{21} が異な
るように行っても良い。すなわち、シクロペンテノンの2個のヒドロキシル基を
共に反応させてもよく、どちらか1個だけを反応させても良いし、 R_{20} 、 R_{21} が
異なるアルコール及び／又はその反応性誘導体を同時にシクロペンテノンと反応
させても良く、順次 R_{20} 、 R_{21} が異なるアルコール及び／又はその反応性誘導体
15 を反応させても良い。シクロペンテノンの水酸基の片方を保護することにより、
 R_{20} 、 R_{21} が異なる化合物又は R_{20} 、 R_{21} のどちらか一方だけがエーテル化され
たシクロペンテノン誘導体を効率よく作製することができる。

- 更に、シクロペンテノンとアルコール及び／又はその反応性誘導体、カルボン
酸及び／又はその反応性誘導体とを、同時又は順次反応させることにより、シク
20 ロペンテノンの水酸基の一方がエーテル化され、一方がエステル化された化合物
を製造することができる。

- 上記の式 [I I] で表される化合物、例えば、式 [I V]、式 [V] 等で表さ
れる化合物又はその光学活性体の精製、単離手段としては、化学的方法、物理的
方法等の公知の精製手段を用いれば良く、ゲルろ過法、分子量分画膜による分画
25 法、溶媒抽出法、分留法、イオン交換樹脂等を用いた各種クロマトグラフィー法
等の従来公知の精製方法を組合せ、反応生成物中の式 [I I] で表される化合物
又はその光学活性体を精製、単離することができる。

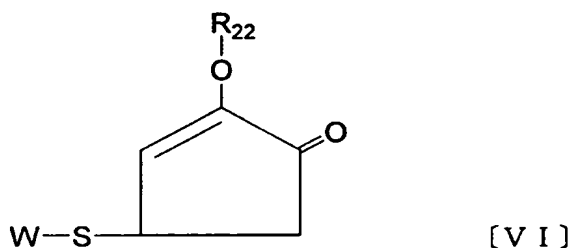
 式 [I I] で表される化合物はその4位と5位の立体配置がシスの異性体とト
ランスの異性体が存在する。本発明においてはシス体化合物を用いてもよいし、

トランス体化合物を用いてもよいし、両異性体の混合物を用いてもよい。また、これらの光学活性体を用いてもよい。

式〔I I〕で表される化合物又はその光学活性体の塩としては、例えば、医薬として許容される塩があり、公知の方法にて変換することができる。

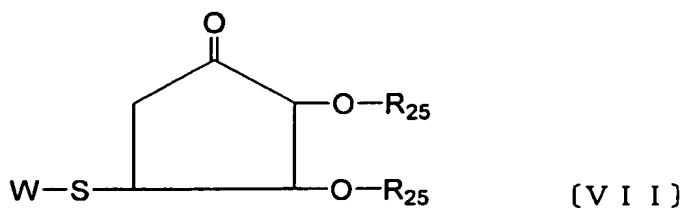
- 5 式〔I I〕で表される化合物、その光学活性体及び／又はそれらの塩と、SH基含有化合物とを反応させることにより、反応液中に本発明の化合物が生成する。

例えば、式〔I I〕で表される化合物、その光学活性体及び／又はそれらの塩と、SH基含有化合物、例えばSH基含有アミノ酸又はその誘導体とを酸性下で反応させることにより、反応液中に下記式〔V I〕で表される化合物（以下、シクロペンテノンチオ誘導体と称す）が生成する。



- 〔式中、 R_{22} は R_{23} 、又は $-(CO)-R_{24}$ であり、 R_{23} 、 R_{24} は脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基であり、 R_{24} は水素でも良い。また、WはSH基含有化合物からSH基を除いた残基である。〕

また、式〔I I〕で表される化合物、その光学活性体及び／又はそれらの塩と、SH基含有化合物、例えば、SH基含有アミノ酸又はその誘導体とを中性下で反応させることにより、反応液中に下記式〔V I I〕で表される化合物（以下、シクロペンタノンチオ誘導体と称す）が生成する。



〔式中、 R_{25} はH、 R_{27} 、又は $-(CO)-R_{28}$ 、 R_{26} はH、 R_{29} 、又は $-(C$

○) $-R_{30}$ であり、 R_{27} 、 R_{28} 、 R_{29} 、 R_{30} は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_{28} 、 R_{30} はHでも良い。但し $R_{25} = R_{26} = H$ は除く。]

5 SH基含有化合物は何ら限定はなく、例としては、メタンチオール、ブタンチオール、メルカプトエタノール、SH基含有アミノ酸、SH基含有アミノ酸誘導体等が挙げられる。SH基含有アミノ酸の例としては、システイン、ホモシステイン等が挙げられる。

SH基含有アミノ酸誘導体としては、上記アミノ酸の誘導体、例えば、システイン誘導体、システイン含有ペプチド、システイン誘導体含有ペプチドが例示される。システイン含有ペプチドとしてはペプチド中にシステインが構成成分とな
10 っていれば良く、特に限定はない。本発明のシステイン含有ペプチドとしては、オリゴペプチド、例えばグルタチオンのような低分子物からタンパク質のような高分子物までを包含する。またシスチン又はホモシスチンを含有するペプチドも反応中にシステイン又はホモシステイン含有ペプチドとなる条件下、例えば、還元処理を組合せることにより、本発明のシステイン又はホモシステイン含有ペ
15 チドとして使用することができる。なお、システイン含有ペプチドとしては、糖質、脂質等を含有するシステイン含有ペプチドも包含される。また、上記した各種の物の塩、酸無水物、エステル等であってもよい。

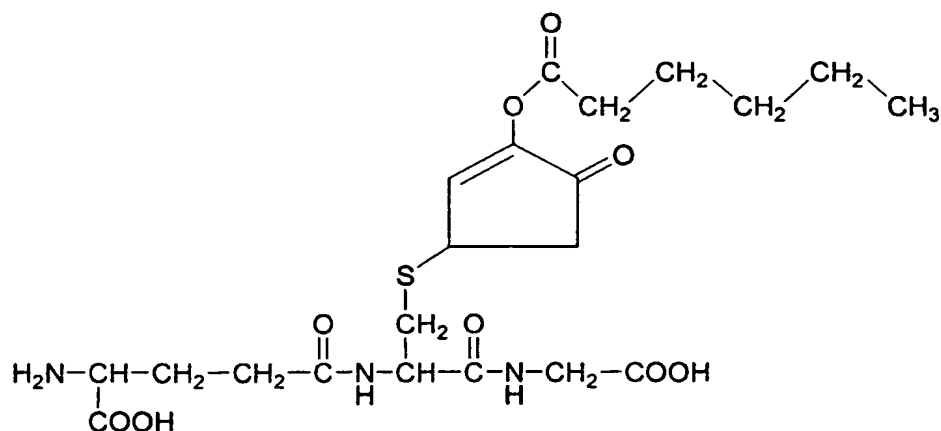
以上、式〔I I〕で表される化合物は上記SH基含有化合物と反応し、本発明
20 の化合物が形成される。

式〔I I〕で表される化合物、その光学活性体及び／又はそれらの塩と、SH基含有化合物、例えばSH基含有アミノ酸、又はその誘導体とが反応し、生成した本発明の化合物又はその光学活性体の精製、単離手段としては、化学的方法、物理的方法等の公知の精製手段を用いれば良く、ゲルろ過法、分子量分画膜によ
25 る分画法、溶媒抽出法、分留法、イオン交換樹脂等を用いた各種クロマトグラフィー法等の従来公知の精製方法を組合せ、反応生成物中の本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩を精製、単離することができる。

例えば、シクロペンテノン、*n*-ヘキサン酸、ジメチルアミノピリジン及びN、N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドをジクロロメタンに溶解して反応させる

ことによりジヘキサノイルシクロペンテノンが生成し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製できる。

次に、例えば、等モルのジヘキサノイルシクロペンテノンとグルタチオン（還元型）を反応させることにより、反応液中に下記式〔VII〕で表されるシクロペンテノンチオ誘導体が生成し、この誘導体を含有する反応生成物のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、該シクロペンテノンチオ誘導体を精製、単離することができる。

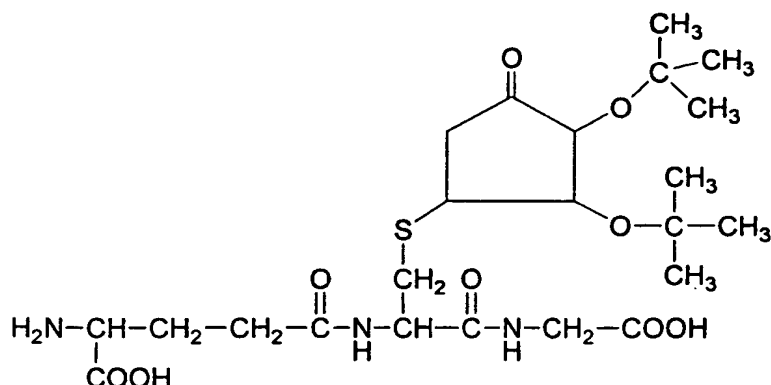


〔VII〕

また、例えば、シクロペンテノン、*t*-ブチル-2,2,2-トリクロロアセトイミデート、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体をジクロロメタンに溶解して反応させることにより4,5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルが生成し、薄層シリカゲルクロマトグラフィーにより精製できる。

次に、例えば、4,5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルとグルタチオン（還元型）を反応させることにより、反応液中に下記式〔IX〕で表されるシクロペンタノンチオ誘導体が生成し、この該誘導体を含有する反応生成物のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、該シクロペンタノンチオ誘導体を精製、単離することができる。

13



〔IX〕

- 5 本発明の化合物の光学活性体の分離はラセミ混合物の機械的分割、優先晶出法、ジアステレオマー塩あるいは包接化合物としての結晶化による分割、酵素・微生物による動力学的分割、クロマトグラフィーによる分割等により行うことができる。

10 クロマトグラフィーによる分離としては、ガスクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー等を用いることができ、それぞれに適したキラル固定相を使用すればよい。

液体クロマトグラフィーによる光学分割としては、キラルな固定相を用いる方法、キラルな溶離液を用いる方法、ジアステレオマーとしての分離等を用いることができる。

- 15 キラル固定相としては、アミド系固定相、尿素系固定相、配位子交換型固定相、多糖・多糖誘導体固定相、タンパク質固定相、ポリメタクリル酸エステル固定相、ポリメタクリルアミド固定相等が使用できる。

溶離液としては、ヘキサン系、アルコール系、水（緩衝液）系等が使用でき、上記固定相との組合せにおいて適宜使用することができる。

- 20 本発明の化合物又はその光学活性体の塩としては、医薬として許容される塩があり、公知の方法にて変換することができる。

本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩は制がん活性、がん細胞増殖抑制活性、アポトーシス誘発活性等の生理活性を有し、これらの活性によ

り、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分として含有する医薬は、例えば、がん疾患に作用する医薬、例えば制がん剤、がん予防剤等として有用である。従って、本発明で得られる医薬は、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩に感受性を示す疾病用の医薬として、例えば、がんの治療用医薬又は予防用医薬として極めて有用である。

本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩は、例えば、ヒト前骨髄性白血病細胞HL-60、ヒト急性リンパ芽球性白血病細胞MOLT-3、肺がん細胞A-549、SV40形質転換肺細胞WI-38VA13、肝がん細胞Hep G2、結腸がん細胞HCT 116、ヒト結腸がん細胞SW480、ヒト結腸がん細胞WiDr、胃がん細胞AGS、ミエローマ細胞等のがん細胞に細胞増殖抑制作用、制がん活性を有する。また、これらの化合物はがん細胞にアポトーシス誘発作用を有する。本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩のがん細胞増殖抑制作用機作は本発明をなんら制限するものではない。

制がん作用を有する本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分とし、これを公知の医薬用担体と組合せ製剤化すれば制がん剤を製造することができる。本発明の制がん剤の製造は一般的には、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を薬学的に許容できる液状又は固体状の担体と配合し、かつ必要に応じて溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を加えて、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤等の固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤であることができる。またこれを使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品とすることができる。

医薬用担体は、上記投与形態及び剤型に応じて選択することができ、経口剤の場合は、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩等が利用される。また経口剤の調製に当っては、更に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を配合することもできる。

一方、非経口剤の場合は、常法に従い本発明の有効成分である本発明の化合物

若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を希釈剤としての注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、ラッカセイ油、ダイズ油、トウモロコシ油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等に溶解ないし懸濁させ、必要に応じ、殺菌剤、安定剤、
5 等張化剤、無痛化剤等を加えることにより調製される。

本発明の制がん剤は、製剤形態に応じた適当な投与経路で投与される。投与方法も特に限定はなく、内用、外用及び注射によることができる。注射剤は、例えば静脈内、筋肉内、皮下、皮内等に投与し得、外用剤には座剤等も包含される。

制がん剤としての投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的及びこれに適用される患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され、一定ではないが一般には製剤中に含有される本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の量が成人1日当り0.1 μg ~ 200 mg/kgである。
10 もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。本発明の薬剤
15 はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることもできる。

本発明のアポトーシス誘発剤は、アポトーシス誘発性を有する本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分とし、これを上記制がん剤に準じ、製剤化することができ、制がん剤
20 に準じた方法で投与することができる。

アポトーシス誘発剤としての投与量は、制がん剤に準じて適宜設定されるが、一般には製剤中に含有される本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物の量が成人1日当り0.1 μg ~ 100 mg/kgである。もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。本発明
25 の薬剤はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることもできる。

なお、アポトーシスは、病理的細胞死である壊死と異なり、細胞自身の遺伝子に最初から組込まれている死であると考えられている。すなわち何らかの外部的

又は内部的要因が引き金となってアポトーシスをプログラムする遺伝子が活性化され、この遺伝子を基にプログラム死タンパク質が生合成され、生成したプログラム死タンパク質により細胞自体が分解され、死に至ると考えられている。本発明のアポトーシス誘発剤は、このようなアポトーシスを所望の組織、細胞で発現
5 させることができ、不要若しくは病原細胞を自然の形で生体から排除することが可能となり、極めて有用なものである。

本発明のアポトーシス誘発剤はアポトーシス誘発方法に使用することができる。すなわち、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分として使用することによりアポトーシスを
10 誘発させることができ、該方法はアポトーシス誘発機構の解明、アポトーシス誘発剤、アポトーシス誘発阻害剤のスクリーニング等に有用である。

本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩は制がん活性、がん細胞増殖抑制活性、アポトーシス誘発活性等の生理活性を有し、これらの活性により、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を含有する食品又は飲料は、上記種々の生理活性を有する機能性食品又は機能性飲料として有用である。
15

なお、本発明の食品又は飲料の製造においては一般式〔II〕で表される化合物及びSH基含有化合物を使用し、製造工程中において生成する本発明の化合物も使用することができる。

すなわち、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を含有、希釈及び／又は添加してなる食品又は飲料は上記機能性食品又は機能性飲料に包含される。
20

上記機能性食品又は機能性飲料の製造法は、特に限定はないが、調理、加工及び一般に用いられている食品又は飲料の製造法による製造を挙げることができ、製造された食品又は飲料に有効量の生理作用を有する本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物が含有されてい
25

れば良い。
上記機能性食品又は機能性飲料としては、制がん作用、アポトーシス誘発性等の生理機能を有する本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から

選択される少なくとも1つの化合物が含有、添加及び／又は希釈されていれば特にその形状に限定は無く、タブレット状、顆粒状、カプセル状、ゲル状、ゾル状等の形状の経口的に摂取可能な形状物も包含する。

5 上記機能性食品又は機能性飲料は生理活性を有する本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩を含有し、これらの化合物の有する種々の生理活性、制がん作用、アポトーシス誘発作用等によって、これらを摂取することにより発がん予防、がん抑制効果等を有する健康食品又は飲料であり、生体の恒常性の維持、特に胃腸健康保持に有用な食品又は飲料である。

10 本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩はこれらの生理活性の有効量を投与しても毒性は認められない。例えば、経口投与の場合、式〔V I I I〕、式〔I X〕でそれぞれ表される化合物、若しくはそれらの光学活性体又はそれらの塩のいずれかを1000mg/kgでラットに単回投与しても死亡例は認められない。

15 以上、本発明の化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩はその種々の生理的機能により、医薬、食品、飲料等の広い分野において極めて有用な化合物である。この本発明の化合物は式〔I I〕で表される化合物とSH基含有化合物、例えば、SH基含有アミノ酸、又はその誘導体、例えばシステイン含有ペプチドとの反応物として、食品、飲料中でも生成し、人為的に生成されたこれらの化合物の使用も本発明に包含されるものである。

20 シクロペンテノン、シクロペンテノンとSH基含有化合物の反応生成物の2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン (2-hydroxy-4-glutathion-S-yl-2-cyclopenten-1-one) は、ウイルス感染の治療効果を有し、シクロペンテノン及び／又は2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オンを有効成分として含有する抗ウイルス剤
25 を提供することができる。

この抗ウイルス剤はシクロペンテノン若しくはその光学活性体又はそれらの塩、2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分とし、これを前記制がん剤に準じ、製剤化することができ、制がん剤

に準じた方法で投与することができる。

抗ウイルス剤としての投与量は、制がん剤に準じて適宜設定されるが、一般には製剤中に含有される化合物の量が成人1日当り $0.1 \mu\text{g} \sim 100 \text{mg}/\text{kg}$ である。もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より
5 少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。

また、抗ウイルス剤に使用されるこれらの化合物から選択される化合物を有効成分とし、抗ウイルス用農薬、抗ウイルス用飼料、抗ウイルス用浸漬剤を製造することができる。

なお、シクロペンテノン $100 \text{mg}/\text{kg}$ でマウスに単回経口投与しても死亡例は認められない。また2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン $1000 \text{mg}/\text{kg}$ でラットに単回経口投与しても
10 死亡例は認められない。

以上、シクロペンテノン、2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オンは抗ウイルス用化合物として有用である。

以下、実施例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの
15 実施例に何ら限定されるものではない。なお、実施例における%は重量%を意味する。

参考例1

(1) 10g のD-グルクロン酸(シグマ社製 G 5269)を1リットルの水に溶解し、 121°C で4時間加熱した後約 10ml になるまで減圧下濃縮した。
20 これに酢酸ブチル：酢酸：水 = 3：2：2 混合液の上層 40ml を加えて混合後、遠心によって得た上清を減圧下約 10ml まで濃縮した。

上記抽出液をカラムクロマトグラフィー用シリカゲルBW-300SP ($2 \times 28 \text{cm}$ 、富士シリシア化学社製)にアプライし、酢酸ブチル：酢酸：水 =
25 3：2：2の上層を溶離液としてコンプレッサーで $0.2 \text{kg}/\text{cm}^2$ に加圧し、毎分 5ml の流速で分離を行った。1画分当り 10ml になるようにフラクションを行い、各画分の一部をとって薄層クロマトグラフィーで分析したところ61番から80番までの画分に高純度のシクロペンテノンが含まれていた。これらの画分を集めて減圧下濃縮した後 40ml のクロロホルムで抽出し、抽出

液を減圧下濃縮することによって100mgのシクロペンテノンを得た。

この画分をパルパックタイプSカラム（宝酒造社製）を用いた順相HPLCで分離し、215nmの紫外線吸収で検出したところ、純度は98%であった。

5 (2) 参考例1-(1)と同様の方法で得たシクロペンテノン113.9mg
をエタノール2.85mlに溶かした。このエタノール溶液にヘキサン/エタノール(94/6) 3.85mlを更に加え、17mg/mlのシクロペンテノン溶液を調製した。この液を0.5μmのフィルターでろ過し、光学分割HPLC試料溶液とした。

10 この試料溶液を以下の条件で光学分割HPLCを行い、前ピークの(-)体シクロペンテノン及び後ピークの(+)体シクロペンテノンのフラクションをそれぞれ集め、減圧乾固し、(-)体シクロペンテノン43.2mg、(+)体シクロペンテノン43.0mgをそれぞれ得た。

光学分割HPLC条件

15 カラム：キラルパックAS（ダイセル化学工業、2.0cm×25.0cm）

カラム温度：40℃

移動相：ヘキサン/エタノール(94/6)

流速：14.0ml/分

検出：UV 210nm

20 試料注入量：150μl(2.55mg)

得られた(-)体シクロペンテノン及び(+)体シクロペンテノンは両者共に約1%のエナンチオマーを含有していたため再度上記の条件で光学分割した。その結果、前ピークの(-)体シクロペンテノン30.0mgから19.7mgのエナンチオマーを含有しない(-)体シクロペンテノンを、後ピークの(+)体シクロペンテノン37.4mgから27.7mgのエナンチオマーを含有しない(+)体シクロペンテノンをそれぞれ得た。なお(-)体シクロペンテノン、(+)体シクロペンテノンの光学分割HPLCの溶出時間はそれぞれ33分、40分であった。

(3) 参考例1-(1)記載の方法で得たシクロペンテノン29.6mgに無

水ピリジン（ナカライテスク社製 295-26）1 ml、無水酢酸（ナカライテスク社製 002-26）0.1 mlを加えて室温で3時間かくはんした。反応液をクロロホルムで抽出してジアセチルシクロペンテノン36 mgを得た。

5 得られたジアセチルシクロペンテノンの質量分析をDX302質量分析計（日本電子社製）を用いて行った。また、CDCl₃に溶解し、NMRによってその構造を解析した。核磁気共鳴装置はJNM-A500（日本電子社製）を用いた。その結果を以下に示す。但し、¹H-NMRの化学シフト値はクロロホルムの化学シフト値を7.24 ppmとして表した。

MS m/z 199 (M+H)⁺

10 ¹H-NMR

δ 2.12 (3H, s, -OCOCH₃), 2.16 (3H, s, -OCOCH₃), 5.16 (1H, d, J=3.0 Hz, H-5), 5.89 (1H, m, H-4), 6.40 (1H, d-d, J=1.5, 6.5 Hz, H-2), 7.43 (1H, d-d, J=2.5, 6.5 Hz, H-3)

15 (4) 参考例1-(2)の方法で得た(-)体シクロペンテノン15.9 mgを用いて上記参考例1-(3)と同様の反応を行い、ジアセチル(-)体シクロペンテノン15.1 mgを得た。上記参考例1-(3)と同様に質量分析と核磁気共鳴による構造解析を行い、上記参考例1-(3)と同様の結果が得られた。

(5) 参考例1-(2)の方法で得た(+)体シクロペンテノン16.7 mgを用いて上記参考例1-(3)と同様の反応を行い、ジアセチル(+)体シクロペンテノン18.8 mgを得た。上記参考例1-(3)と同様に質量分析と核磁気共鳴による構造解析を行い、上記参考例1-(3)と同様の結果が得られた。

20 (6) シクロペンテノン13.8 mgに安息香酸（ナカライテスク社製 041-20）44.3 mg、ジメチルアミノピリジン（DMAP：東京化成工業社製 D1450）7.5 mg、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC：ペプチド研究所社製 1001）51.0 mgを加えてクロロホルム5 mlを添加し、氷冷中4時間かくはんした。反応液をろ過して得られたろ液をシリカゲルカラム（75 ml）にアブライシ、クロロホルムで溶出してジベンゾイルシクロペンテノンを含む画分を得た。この画分の溶媒を減圧下除去し、残渣をエ

タノールに溶解した後、クロロホルムとメタノールの99:1混合液を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより分離した。Rf=0.45~0.55の部分のシリカゲルを薄層から掻き取り、クロロホルムで抽出することによりジベンゾイルシクロペンテノン3.2mgを得た。

- 5 得られたジベンゾイルシクロペンテノンの質量分析と核磁気共鳴による構造解析を上記参考例1-(3)と同様に行った。その結果を以下に示す。

MS m/z 323 (M+H)⁺

¹H-NMR

- 10 δ 5.56 (1H, d, J=3.0 Hz, H-5), 6.30 (1H, m, H-4), 6.54 (1H, d-d, J=1.5, 6.5 Hz, H-2), 7.44 (4H, m, 芳香環のH), 7.58 (2H, m, 芳香環のH), 7.64 (1H, d-d, J=2.0, 6.5 Hz, H-3), 8.06 (4H, m, 芳香環のH)

- 15 (7) (-) 体シクロペンテノン22.1mg、安息香酸71.9mg、DMAP 12.1mg、DCC 80.3mgを用いて上記参考例1-(6)と同様の反応を行い、ジベンゾイル(-)体シクロペンテノン19.2mgを得た。上記参考例1-(6)と同様に質量分析と核磁気共鳴による構造解析を行い、上記参考例1-(6)と同様の結果が得られた。

- 20 (8) (+) 体シクロペンテノン20.4mg、安息香酸65.6mg、DMAP 11.0mg、DCC 74.3mgを用いて上記参考例1-(6)と同様の反応を行い、ジベンゾイル(+)体シクロペンテノン21.4mgを得た。上記参考例1-(6)と同様に質量分析と核磁気共鳴による構造解析を行い、上記参考例1-(6)と同様の結果が得られた。

- 25 (9) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、ヘキサノ酸(ナカライテスク社製 070-26) 153mgを5.9mlのジクロロメタンに溶解し、氷冷下DCC 108mgを加えた。1時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離精製した。Rf=0.3~0.4の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより11mgのジヘキサノイルシクロペンテノンを得た。

得られたジヘキサノイルシクロペンテノンに CDCl_3 に溶解して核磁気共鳴法 (NMR) によって確認した。核磁気共鳴装置は JNM-EX270 FT NMR システム (日本電子社製) を用いた。また、 ^1H -NMR の化学シフト値はテトラメチルシランの化学シフト値を 0 ppm として表した。

5 その結果を以下に示す。

^1H -NMR

δ 7.44 (1H, dd, $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 1.98 \text{ Hz}$, H-3), 6.42 (1H, dd, $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 1.32 \text{ Hz}$, H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d, $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$, H-5), 2.42 (2H, t, $J = 7.26 \text{ Hz}$), 2.38 (2H, t, $J = 7.76 \text{ Hz}$), 1.65 (4H, m), 1.26 (8H, m), 0.88 (6H, t)

(10) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、ミリスチン酸 (東京化成工業社製 M0476) 301mg を 5.9ml のジクロロメタンに溶解し、氷冷下 DCC 108mg を加えた。1 時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離した。Rf = 0.45 ~ 0.55 の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより 53mg のジミリストイルシクロペンテノンを得た。

得られたジミリストイルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例 1 - (9) と同様に行った。その結果を以下に示す。

^1H -NMR

δ 7.45 (1H, dd, $J_{2-3} = 5.94 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 2.31 \text{ Hz}$, H-3), 6.42 (1H, dd, $J_{2-3} = 5.31 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 1.32 \text{ Hz}$, H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d, $J_{4-5} = 2.64 \text{ Hz}$, H-5), 2.42 (2H, t, $J = 7.26 \text{ Hz}$), 2.38 (2H, t, $J = 7.91 \text{ Hz}$), 1.63 (4H, m), 1.26 (32H, m), 0.88 (6H, t)

(11) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、オクタン酸 (ナカライテスク社製 071-11) 190mg を 5.9ml のジクロロメタン

に溶解し、氷冷下DCC 108mgを加えた。1時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離した。Rf=0.25~0.35の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより27mgのジオクタノイルシクロペンテノンを得た。

- 5 得られたジオクタノイルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(9)と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

10 δ 7.44 (1H, dd, J₂₋₃=6.1Hz, J₃₋₄=2.16Hz, H-3), 6.41 (1H, dd, J₂₋₃=6.1Hz, J₃₋₄=1.48Hz, H-2), 5.92 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d, J₄₋₅=2.97Hz, H-5), 2.42 (2H, t, J=7.59Hz), 2.38 (2H, t, J=7.91Hz), 1.65 (4H, m), 1.29 (16H, m), 0.88 (6H, t)

- 15 (12) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、3-オクテン酸 (東京化成工業社製 00070) 190mgを5.9mlのジクロロメタンに溶解し、氷冷下DCC 108mgを加えた。1時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離した。Rf=0.25~0.35の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより25mgのジ-3-オクテノイルシクロペンテノンを得た。
- 20

得られたジ-3-オクテノイルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(9)と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

25 δ 7.44 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=2.32Hz, H-3), 6.42 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=1.49Hz, H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.55 (4H, m), 5.16 (1H, d, J₄₋₅=2.97Hz, H-5), 3.12 (4H, dd, J=12.85Hz, J=6.59Hz), 2.04 (4H, m), 1.33 (8H, m), 0.89 (6H, t)

(13) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、*n*-酪酸（東京化成工業社製 B0754） 115mg を5.9ml のジクロロメタンに溶解し、氷冷下DCC 108mg を加えた。1時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離した。Rf = 0.20~0.30の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより16mg のジブチリルシクロペンテノンを得た。

得られたジブチリルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(9)と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

δ 7.45 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=2.13Hz, H-3), 6.42 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=1.65Hz, H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.16 (1H, d, J₄₋₅=2.64Hz, H-5)

(14) シクロペンテノン 30mg、DMAP 10mg、*n*-デカン酸（東京化成工業社製 D0017） 226mg を5.9ml のジクロロメタンに溶解し、氷冷下DCC 108mg を加えた。1時間反応後、クロロホルムを展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって反応液を分離した。Rf = 0.35~0.45の部分のシリカゲルを薄層から掻き取ってクロロホルムで抽出することにより35mg のジデカノイルシクロペンテノンを得た。

得られたジデカノイルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(9)と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

δ 7.44 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=1.97Hz, H-3), 6.42 (1H, dd, J₂₋₃=6.27Hz, J₃₋₄=1.3Hz, H-2), 5.91 (1H, m, H-4), 5.15 (1H, d, J₄₋₅=2.97Hz, H-5), 2.42 (2H, t, J=7.24Hz), 2.38 (2H, t, J=7.91Hz), 1.65 (4H, m), 1.26 (24H, m), 0.88 (6H, t)

(15) シクロペンテノン 30mg、DMAP 16mg、トリエチルアミ

ン（東京化成工業社製 T O 4 2 4） 6 6 m g 及び無水n-吉草酸（東京化成工業社製 V O O O 6） 1 2 2 m g を5. 9 m l のジクロロメタンに溶解し、氷冷下1時間反応させた。この反応液をクロロホルム：メタノール=2 0 0 : 1 を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって展開し、R f = 0 . 7 ~ 0 . 8 の部分のシリカゲルを薄層から掻き取り、クロロホルムで抽出することによって3 9 m g のジバレリルシクロペンテノンを得た。

得られたジバレリルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1- (9) と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

δ 7 . 4 5 (1 H, d d, J 2-3=6. 1 1 H z, J 3-4=1. 6 6 H z, H-3)、6. 4 2 (1 H, d d, J 2-3=6. 1 1 H z, J 3-4=1. 6 6 H z, H-2)、5. 9 1 (1 H, m, H-4)、5. 1 6 (1 H, d, J 4-5=2. 9 7 H z, H-5)、2. 4 3 (2 H, d d, J=7. 5 9, 7. 5 9 H z)、2. 3 9 (2 H, d d, J=7. 5 9, 7. 5 9 H z)、1. 6 5 (4 H, m)、1. 3 8 (4 H, m)、0. 9 3 (6 H, d d, J=7. 2 6, 7. 2 6 H z)

(1 6) シクロペンテノン 3 0 m g、DMAP 1 6 m g、トリエチルアミン 6 6 m g 及び無水プロピオン酸（東京化成工業社製 P O 5 1 3） 8 6 m g を5. 9 m l のジクロロメタンに溶解し、氷冷下1時間反応させた。この反応液をクロロホルム：メタノール=2 0 0 : 1 を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって展開し、R f = 0 . 5 ~ 0 . 6 の部分のシリカゲルを薄層から掻き取り、クロロホルムで抽出することによって3 1 m g のジプロピオニルシクロペンテノンを得た。

得られたジプロピオニルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析を参考例1- (9) と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

δ 7 . 4 5 (1 H, d d, J 2-3=6. 2 7 H z, J 3-4=2. 1 5 H z, H-3)、6. 4 2 (1 H, d d, J 2-3=6. 2 7 H z, J 3-4=1. 4 9 H z, H-2)、5. 9 1 (1 H, m, H-4)、5. 1 6 (1 H, d, J 4

-5 = 2.97 Hz, H-5)、2.46 (2H, dd, J = 15.01, 7.59 Hz)、2.42 (2H, dd, J = 15.01, 7.59 Hz)、1.18 (6H, dd, J = 7.59, 7.59 Hz)

(17) シクロペンテノン 2 g、DMAP 733 mg、trans-2-
5 ヘキセン酸 (東京化成工業社製、H0383) 4.1 ml 及び DCC 5.5
7 g を 200 ml のジクロロメタンに溶解し、室温で2時間反応させた。この反
応液をヘキサン：酢酸エチル = 8 : 1 を溶媒としたシリカゲルカラムクロマトグ
ラフィーを行い、シリカゲル薄層クロマトグラフィー上で単一のスポットを示す
画分を得た。この画分を減圧下濃縮し、油状のジ-2-ヘキセノイルシクロペン
10 テノン約900 mgを得た。

得られたジ-2-ヘキセノイルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析
を参考例1-(9)と同様に行った。その結果を以下に示す。

¹H-NMR

δ 0.92 (6H, m, 11-H + 11'-H)、1.48 (4H, m, 10
15 -H + 10'-H)、2.18 (4H, m, 9-H, 9'-H)、5.22 (1
H, d, J = 3.0 Hz, 5-H)、5.85 (2H, m, 7-H + 7'-H)、
5.98 (1H, m, 4-H)、6.41 (1H, dd, J = 1.0, 6.0 Hz, 2-H)、
7.04 (2H, m, 8-H + 8'-H)、7.47 (1H, d
d, J = 2.0, 6.0 Hz, 3-H)

20 なお、シクロペンテノンの5位に結合している2-ヘキセノイル基の炭素をカル
ボニル基から順に6位～11位、シクロペンテノンの4位に結合している2-
ヘキセノイル基の炭素をカルボニル基から順に6'位～11'位とした。

(18) シクロペンテノン 1.2 g を 200 ml のジクロロメタンに溶解し、
無水イソ酪酸 (ナカライテスク社製) 1.7 ml、DMAP 427 mg、ト
25 リエチルアミン (ナカライテスク社製) 1.46 ml を加えた。室温で1時間
反応後減圧下濃縮して酢酸エチルに溶解し、10%クエン酸及び飽和重曹水溶液
で洗浄した。これを減圧下濃縮し、ヘキサン：酢酸エチル = 8 : 1 を展開溶媒と
したシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、ヘキサン：酢酸エチル =
6 : 1 を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーで R_f = 0.2 のス

ポットを与える画分を得た。本画分の溶媒を減圧下留去し、高純度のジイソブチリルシクロペンテノンを含む470mgの油状物を得た。

得られたジイソブチリルシクロペンテノンを重クロロホルムに溶解し、核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(3)に従い行った。その結果を以下に示す。

5 $^1\text{H-NMR}$

δ 1.18 (12H, m, 7-H, 8-H, 10-H, 11-H)、2.61 (2H, m, 6-H, 9-H)、5.10 (1H, d, $J=3.0\text{ Hz}$, 5-H)、5.88 (1H, m, 4-H)、6.39 (1H, dd, $J=1.5, 6.0\text{ Hz}$, 2-H)、7.41 (1H, dd, $J=2.5, 6.0\text{ Hz}$, 3-H)

10 但し、重クロロホルムの残留プロトンの化学シフト値を7.24 ppmとして表した。

(19) シクロペンテノン 1.5gを200mlのジクロロメタンに溶解し、メトキシ酢酸（ナカライテスク社製） 2.7g、DMA P 794mg、DCC（ナカライテスク社製） 5.36gを加えた。室温で2時間反応後減圧下濃縮して酢酸エチルに溶解し、10%クエン酸及び飽和重曹水溶液で洗浄した。これを減圧下濃縮し、ヘキサン：酢酸エチル=2：3を展開溶媒としたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、ヘキサン：酢酸エチル=1：1を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーで $R_f=0.34$ のスポットを与える画分を得た。本画分の溶媒を減圧下留去し、高純度のジメトキシアセチルシクロペンテノンを含む300mgの油状物を得た。

20 得られたジメトキシアセチルシクロペンテノンを重クロロホルムに溶解し、核磁気共鳴による構造解析を参考例1-(3)に従い行った。その結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$

25 δ 3.45 (6H, s, 7-H, 9-H)、4.13 (4H, m, 6-H, 8-H)、5.30 (1H, d, $J=3.0\text{ Hz}$, 5-H)、5.99 (1H, m, 4-H)、6.44 (1H, dd, $J=1.5, 6.5\text{ Hz}$, 2-H)、7.46 (1H, dd, $J=2.0, 6.5\text{ Hz}$, 3-H)

但し、重クロロホルムの残留プロトンの化学シフト値を7.24 ppmとして

表した。

(20) シクロペンテノン 1.1 g を 200 ml のジクロロメタンに溶解し、メチルマレイン酸 3.4 g、DMAP 610 mg、DCC 4.12 g、を加えた。室温で2時間反応後減圧下濃縮して酢酸エチルに溶解し、10%クエン酸及び飽和重曹水溶液で洗浄した。これを減圧下濃縮し、ヘキサン：酢酸エチル=3：2を展開溶媒としたシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し、ヘキサン：酢酸エチル=1：1を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーで $R_f = 0.6$ のスポットを与える画分および $R_f = 0.45$ のスポットを与える画分を得た。

両画分の溶媒をそれぞれ減圧下留去し、 $R_f = 0.6$ の画分より高純度のジメチルフマリルシクロペンテノンを含む 300 mg の固体物、及び $R_f = 0.45$ の画分より高純度のジメチルマレイルシクロペンテノンを含む 300 mg の油状物を得た。

それぞれを重クロロホルムに溶解し、核磁気共鳴による構造解析を参考例 1 -

(3) に従い行った。その結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$

ジメチルフマリルシクロペンテノン

δ 3.80 (6H, s, 10-H, 15-H)、5.31 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, 5-H)、6.03 (1H, m, 4-H)、6.48 (1H, dd, $J = 1.0, 6.0$ Hz, 2-H)、6.90 (4H, m, 7-H, 8-H, 12-H, 13-H)、7.50 (1H, dd, $J = 2.0, 6.0$ Hz, 3-H)

ジメチルマレイルシクロペンテノン

δ 3.76 (6H, s, 10-H, 15-H)、5.31 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, 5-H)、6.07 (1H, m, 4-H)、6.31 (4H, m, 7-H, 8-H, 12-H, 13-H)、6.44 (1H, dd, $J = 1.5, 6.0$ Hz, 2-H)、7.58 (1H, dd, $J = 2.0, 6.0$ Hz, 3-H)

但し、重クロロホルムの残留プロトンの化学シフト値を 7.24 ppm として表した。

(21) 44 mg のシクロペンテノンと 492 mg のベンジル 2, 2, 2-トリクロロアセトイミデート (アルドリッチ社製、14, 033-3) をアルゴン気流下 2.5 ml のジクロロメタン (和光純薬社製、135-02441) に溶解した。これに $28 \mu\text{l}/\text{ml}$ 三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (和光純薬社製、022-08362) ジクロロメタン溶液 1 ml をかくはんしながら
5 徐々に添加した。室温で 8 時間かくはん後、減圧下濃縮し、展開溶媒としてクロロホルム：メタノール = 19 : 1 を用いたシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより 4-ベンジルシクロペンテノンエーテル、5-ベンジルシクロペンテノンエーテル、及び 4, 5-ジベンジルシクロペンテノンエーテルを精製した。4-ベン
10 ジルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.3、5-ベンジルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.45、4, 5-ジベンジルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.8 であった。収率は 4-ベンジルシクロペンテノンエーテルが 3.7%、5-ベンジルシクロペンテノンエーテルが 3.7%、4, 5-ジベン
ジルシクロペンテノンエーテルが 2.5% であった。

15 4-ベンジルシクロペンテノンエーテル、5-ベンジルシクロペンテノンエーテル、及び 4, 5-ジベンジルシクロペンテノンエーテルの構造を核磁気共鳴法 (NMR) によって確認した。核磁気共鳴装置は JNM-EX270 FT NMR システム (日本電子社製) を用いた。また、¹H-NMR の化学シフト値はテトラメチルシランの化学シフト値を 0 ppm として表した。その結果を以下
20 に示す。

4-ベンジルシクロペンテノンエーテル

¹H-NMR

25 δ 7.47 (1H, dd, J = 6.0 Hz, J = 1.68), δ 7.36 (5H, m), δ 6.3 (1H, dd, J = 6.0 Hz, J = 1.33 Hz), δ 4.88 (1H, d, J = 11.55), δ 4.75 (1H, d, J = 11.55), δ 4.55 (1H, m), δ 4.28 (1H, m), δ 2.78 (1H, m)

5-ベンジルシクロペンテノンエーテル

¹H-NMR

δ 7.39 (6H, m), δ 6.22 (1H, dd, J = 6.24 Hz, J =

1. 32 Hz), δ 5.09 (1H, d, $J=11.87$), δ 4.79 (1H, m), δ 4.77 (1H, d, $J=11.87$), δ 3.98 (1H, d, $J=2.97$), δ 2.06 (1H, m)

4, 5-ジベンジルシクロペンテノンエーテル

5 $^1\text{H-NMR}$

δ 7.47 (1H, dd, $J=6.27\text{ Hz}$, $J=1.98$), δ 7.34 (10H, m), δ 6.29 (1H, dd, $J=6.10\text{ Hz}$, $J=1.49\text{ Hz}$), δ 4.88 (1H, d, $J=11.85$), δ 4.74 (1H, d, $J=11.85$), δ 4.71 (2H, d, $J=11.55$), δ 4.56 (1H, m), δ 4.33 (1H, d, $J=2.64$)

10 (22) 44 mg のシクロペンテノンと 287 mg の *t*-ブチル 2, 2, 2-トリクロロアセトイミデート (アルドリッチ社製、36, 478-9) をアルゴン気流下 2.5 ml のジクロロメタンに溶解した。これに 28 $\mu\text{l/ml}$ 三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体ジクロロメタン溶液 1 ml をかくはんしながら
15 徐々に添加した。室温で 8 時間かくはん後、減圧下濃縮し、参考例 1-(21) と同様にシリカゲル薄層クロマトグラフィーにより 4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル、5-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル、及び 4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルを精製した。4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.35、5-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.27、4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルの R_f 値は 0.73 であった。収率は 4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルが 9.2%、5-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルが 1.9%、4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルが 11% であった。

20 4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル、5-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル、及び 4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルの構造を参考例 1-(21) と同様の方法で NMR によって確認した。その結果を以下に示す。

4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル

$^1\text{H-NMR}$

δ 7.34 (1H, dd, $J=5.94\text{ Hz}$, $J=0.99$), δ 6.25

(1H, dd, $J=6.10$, $J=1.49$), $\delta 4.59$ (1H, m), $\delta 4.08$ (1H, d, $J=2.31$), $\delta 2.85$ (1H, m), $\delta 1.33$ (9H, s)

5-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル

5 $^1\text{H-NMR}$

$\delta 7.37$ (1H, dd, $J=6.27\text{ Hz}$, $J=1.98$), $\delta 6.23$ (1H, dd, $J=6.27$, $J=1.32$), $\delta 4.75$ (1H, m), $\delta 4.04$ (1H, d, $J=2.63$), $\delta 2.23$ (1H, m), $\delta 1.32$ (9H, s)

10 4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル

$^1\text{H-NMR}$

$\delta 7.35$ (1H, dd, $J=6.27\text{ Hz}$, $J=1.65$), $\delta 6.24$ (1H, dd, $J=6.26$, $J=0.99$), $\delta 4.62$ (1H, ddd, $J=3.3$, $J=1.65$, $J=0.99$), $\delta 4.16$ (1H, d, $J=3.31$), $\delta 1.38$ (18H, s)

15

(23) シクロペンテノンの1M水溶液100 μl と200mMグルタチオン(還元型:ナカライテスク社販売:170-10)水溶液(pH3.0)500 μl を混合し、60℃で5時間反応させた。この反応液を0.5 μm コスモナイスフィルターでろ過し、以下の条件でHPLCで分離した。

20

カラム:TSK gel ODS-80Ts (5 μm)、20mm \times 25cm

移動相:A 0.1%TFA水溶液

B 0.1%TFA/50%アセトニトリル水溶液

流速:7.5ml/分

グラジエント:10分間移動相A \rightarrow 55分かけて移動相AからA:B=1:1

25

\rightarrow 15分かけて移動相A:B=1:1から移動相B

検出:220nmにおける吸光度

上記反応液200 μl をHPLCにかけ、保持時間35.7、36.1分のピークを分取し、それぞれ減圧下濃縮乾固し、乾固物5.5mgを得た。

この乾固物の構造を解析した。NMRスペクトルはJNM-A500、質量ス

ペクトル (MS) は DX 302 質量分析計 (日本電子社製)、紫外 (UV) 吸収スペクトルは UV-2500 分光光度計 (島津製作所製)、赤外吸収 (IR) スペクトルは FTIR-8000 PC 赤外分光光度計 (島津製作所製) を用いて測定した。その結果を以下に示す。

5 ^1H -NMR

δ 2.09 (2H, m, 5'-H), 2.28 (1H, dd, $J=13.0$, 20.0 Hz, 5-H), 2.44 (2H, m, 4'-H), 2.78 (1H, dd, $J=8.5$, 14.0, 1'-H), 2.85 又は 2.89 (1H, dd, $J=3.0$, 6.0 Hz, 5-H), 2.92 又は 2.95 (1H, dd, $J=1.0$, 5.5 Hz, 1'-H), 3.86 (2H, s, 9'-H), 3.95 (2H, m, 4-H, 6'-H), 4.46 (1H, m, 2'-H), 6.47 又は 6.49 (1H, d, $J=3.0$ Hz, 3-H)

 試料は 0.1 N DCl 重水溶液に溶解し、HOD の化学シフト値を 4.65 ppm として表した。

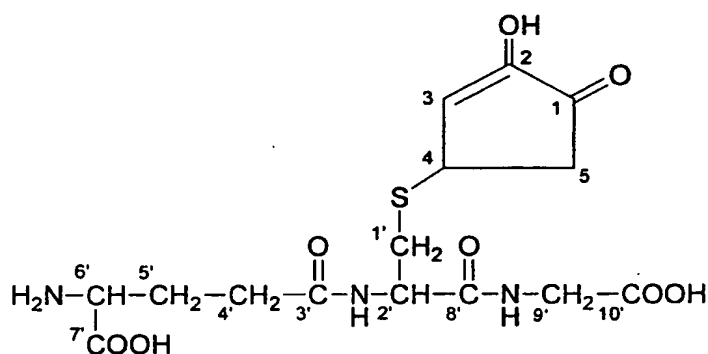
15 ^{13}C -NMR

δ 26.3 (5'-C), 31.7 (4'-C), 31.9 又は 32.1 (1'-C), 39.3 (4-C), 41.9 (9'-C), 42.2 又は 42.3 (5-C), 53.3 (6'-C), 54.1 (2'-C), 133.5 (3-C), 154.4 (2-C), 173 付近 (3'-C, 7'-C, 8'-C, 10'-C), 205.8 (1-C)

 試料は 0.1 N DCl 重水溶液に溶解し、ジオキサンの化学シフト値を 67.4 ppm として表した。

 なお、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR のピークの帰属の番号は下記式 [X] のとおりである。

33



[X]

FAB-MS

5 m/z 404 ($M+H$)⁺, 426 ($M+Na$)⁺

グリセロールをマトリックスに用いた。

UV λ_{max} 251 nm (水)

IR ν^{KBr} cm^{-1} 2949, 1710, 1660, 1539, 1404, 1203

10 拡散反射法によって行った。

以上の結果から、乾固物は2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オンであった。

(24) インフルエンザウイルスのマウス感染実験を行い、シクロペンテノン及び2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オンの治療効果を調べた。

4週齢の雌性BALB/cマウスに鶏卵で増殖したヒトインフルエンザウイルスA1/FM/1/47(ATCC VR-97)を 1×10^4 FFUずつ、経鼻感染させた。

20 ウイルス感染直後に、シクロペンテノン1mg/kg、2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン3mg/kg又は30mg/kgをインフルエンザウイルス感染マウスに腹腔内に単回投与した。

なお対照にはリン酸緩衝生理食塩水を投与した。

その結果、対照群では16日目までに11匹中4匹が死亡したのに対し、シク

ロペンテノン 1 mg/kg 投与群では 11 匹中 1 匹、2-ヒドロキシ-4-グル
タチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン 3 mg/kg 投与群では 1
1 匹中 1 匹、2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテ
ン-1-オン 30 mg/kg 投与群では 10 匹中 1 匹がそれぞれ死亡したのみで
5 あり、シクロペンテノン又は 2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2
-シクロペンテン-1-オン投与による抗インフルエンザウイルス作用が認めら
れた。

実施例 1

(1) 参考例 1-(9) で得たジヘキサノイルシクロペンテノン 13 mg を
10 300 μ l のエタノールに溶解し、リン酸緩衝食塩水 (PBS、宝酒造社製、T
900) 700 μ l、グルタチオン (還元型、ナカライテスク社製、170-
50) 13 mg を加えた。更に 1M Tris-HCl (pH 7.5) 15
0 μ l を添加して pH を約 7 に調整した。室温で 30 時間反応させた後、酢酸エ
チル：酢酸：水 = 13 : 4 : 4 を移動相としたシリカゲルカラムクロマトグラフ
15 ィーにかけ、上記移動相を展開溶媒とした薄層シリカゲルクロマトグラフィー上
で Rf = 0.2 のスポットを与える画分を得た。減圧下、溶媒を留去し、12 m
g の反応生成物を得た。

(2) 実施例 1-(1) で得た反応生成物の構造を解析した。核磁気共鳴 (N
MR) スペクトルは JNM-A500 (日本電子社製)、質量スペクトル (M
20 S) は DX302 質量分析計 (日本電子社製)、紫外 (UV) 吸収スペクトルは
UV-2500 分光光度計 (島津製作所製)、赤外吸収 (IR) スペクトルは F
TIR-8000 PC 赤外分光光度計 (島津製作所製) を用いて測定した。

その結果を以下に示す。

¹H-NMR

25 δ 0.86 (3H, t, J = 7.0 Hz, 11-H)、1.29 (4H, m, 1
0-H, 9-H)、1.57 (2H, m, 8-H)、1.89 (2H, m, 6'
-H)、2.33 (3H, m, 5'-H, 5-H)、2.52 (2H, m, 7-
H)、2.72 (1H, dd, J = 10.0, 13.0 Hz, 1'-H) 又は 2.
79 (1H, dd, J = 9.5, 13.5 Hz, 1'-H)、2.99 (2H,

m, 1' -H, 5-H)、3.32 (1H, m, 7' -H)、3.70 (2H, m, 11' -H)、4.22 (1H, m, 4-H)、4.48 (1H, m, 2' -H)、7.46 (1H, d, J=3.0 Hz, 3-H) 又は 7.47 (1H, d, J=2.5 Hz, 3-H)、8.47 (1H, m, 3' -H)、8.70 (1H, m, 10' -H)

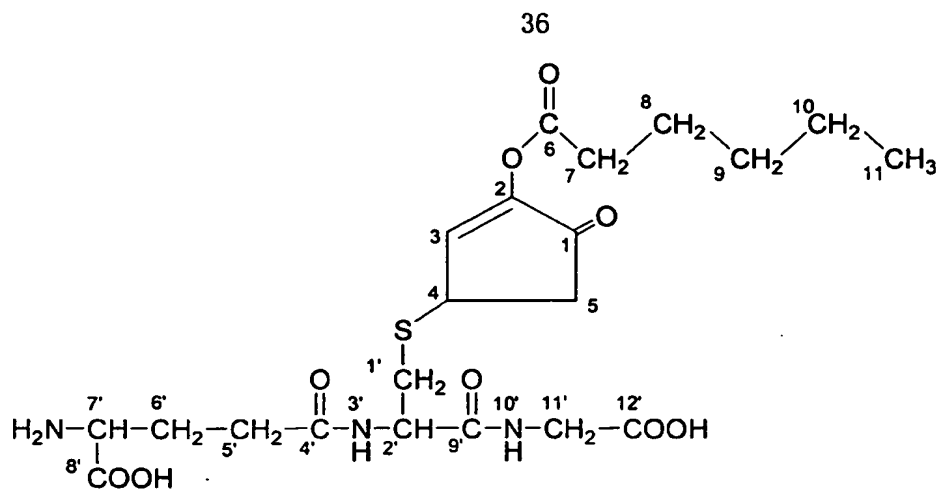
試料は重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの残留プロトンの化学シフト値を2.49 ppmとして表した。

¹³C-NMR

δ 13.7 (11-C)、21.7 (9-C又は10-C)、23.9 (8-C)、26.8 (6' -C)、30.4 (9-C又は10-C)、31.4 (5-C)、32.4 (1' -C) 又は 32.6 (1' -C)、32.9 (7-C)、38.0 (4-C) 又は 38.1 (4-C)、41.0 (5-C) 又は 41.19 (5-C)、41.23 (11' -C)、52.3 (2' -C) 又は 52.6 (2' -C)、53.1 (7' -C)、146.7 (3-C)、148.95 (2-C) 又は 149.00 (2-C)、169.9 (6-C)、170.4 (8' -C)、170.6 (9' -C)、171.0 (12' -C)、171.8 (4' -C)、198.3 (1-C) 又は 198.4 (1-C)

試料は重ジメチルスルホキシドに溶解し、重ジメチルスルホキシドの化学シフト値を39.5 ppmとして表した。

なお、¹H-NMR、¹³C-NMRにおけるピークの帰属の番号は下記式〔XI〕の通りである。



FAB-MS

m/z 502 [M+H]⁺

5 524 [M+Na]⁺

m-ニトロベンジルアルコールをマトリックスに用いた。

UV

λ_{max} 227、273 nm (MeOH)

IR

10 $\nu^{KB, max} \text{ cm}^{-1}$ 3359、2933、1768、1730、1647、1517、1236、1103

拡散反射法によって行った。

15 以上の結果より、本反応生成物は式 [V I I I] で表される 2-ヘキサノイルオキシ(hexanoyloxy)-4-グルタチオン(glutathion)-S-イル(yl)-2-シクロペンテン(cyclopenten)-1-オン(one) (以下単にヘキサノイルGMと称す) であり、本発明のシクロペンテンチオ誘導体であることが明らかになった。なお、本シクロペンテンチオ誘導体は2種のジアステレオマー混合物であり、本反応生成物よりそれぞれのジアステレオマーを分離した。

20 図1～図5にヘキサノイルGMの分析結果を示す。すなわち、図1はヘキサノイルGMの¹H-NMRスペクトルを示す図であり、横軸は化学シフト値 (ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。図2はヘキサノイルGMの¹³C-NMRスペクトルを示す図であり、横軸は化学シフト値 (ppm)、縦軸はシグナルの強

度を示す。図3はヘキサノイルGMのマススペクトルを示す図であり、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度(%)を示す。図4はヘキサノイルGMのUV吸収スペクトルを示す図であり、横軸は波長(nm)、縦軸は吸光度を示す。図5はヘキサノイルGMのIR吸収スペクトルを示す図であり、横軸は波数(cm^{-1})、縦軸は透過率(%)を示す。

実施例2

(1) 参考例1-(22)で得られた4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル 185mgを3.6mlのエタノールに溶解し、PBS 3.6ml及びグルタチオン(還元型) 252mgを加えた。更に1M Tris-HCl (pH 7.5)を加えてpHを7付近に調整した後、室温で1時間反応させた。

本反応液を減圧下乾固し、エタノール：酢酸：水=3：1：1を移動相としたシリカゲルカラムクロマトグラフィーにかけ、エタノール：酢酸：水=3：2：2を展開溶媒とした薄層シリカゲルクロマトグラフィー上で $R_f=0.3$ のスポットを与える画分を得た。なお、薄層シリカゲルクロマトグラフィーにおいて、4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテルはオルシノール-硫酸法で検出でき、グルタチオン(還元型)はニンヒドリン法で検出でき、反応生成物である $R_f=0.3$ のスポットは両方法によって検出可能である。本画分を減圧下濃縮し、ヘキサンを添加して白色粉末を析出させた。以上のようにして240mgの反応生成物を得た。

(2) 実施例2-(1)で得た反応生成物の 1H -NMRスペクトルをJNM-500核磁気共鳴装置(日本電子社製)で測定し、質量分析をDX302質量分析計を用いて行った。その結果、本反応生成物は式[IX]で表される2, 3-ジ(di)-*t*-ブトキシ(butoxy)-4-グルタチオン(glutathion)-S-イル(yl)-1-シクロペンタノン(cyclopentanone)(以下、単にジ-*t*-ブチルGDと称す)であり、ジアステレオマーの混合物であることが明らかになった。

FAB-MS

m/z 532 $[M-H]^-$

554 $[M+Na-2H]^-$

トリエタノールアミンをマトリックスに用いた。

図6にジ-*t*-ブチルGDのマススペクトルを示す。図中、横軸は m/z 値、縦軸は相対強度(%)を示す。

図7にジ-*t*-ブチルGDの $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを示す。溶媒には重ジメチルスルホキシドを用いた。図中、横軸は化学シフト値(ppm)、縦軸はシグナルの強度を示す。

実施例3

(1) HL-60 (ATCC CCL-240) を56℃、30分間処理した10%牛胎児血清(ギブコ社製)を含むRPMI-1640培地(日水社製)に5×10⁴個/mlとなるように懸濁し、100μlずつ96穴マイクロタイタープレートに分注した。このプレートに、8.3mMのヘキサノイルGM溶液(25mM トリス-塩酸緩衝液)を、水で2倍ずつ段階希釈したサンプルを10μl添加した後、5% CO₂存在下37℃で48時間培養した。顕微鏡で細胞状態を観察した後、5mg/mlの3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド(MTT; シグマ社製)りん酸緩衝食塩水溶液10μlを加えて更に4時間培養を続けた。また、0.04N HCl含有2-プロパノール100μlを加えて攪拌し、590nmにおける吸光度を測定した。

その結果、ヘキサノイルGMは、最終濃度6.25μMまで明らかながん細胞増殖抑制活性を示した。さらに、光学顕微鏡観察において、アポトーシス小体が見られ、アポトーシス誘発が確認された。

(2) 19mMのジ-*t*-ブチルGD溶液(70%エタノール水溶液)を、70%エタノール水溶液で2倍ずつ段階希釈したサンプルを96穴マイクロタイタープレートに10μlずつ添加し、風乾した。その後、上記と同様に、HL-60懸濁液を100μlずつ分注した後、アポトーシス誘発活性とがん細胞増殖抑制活性の検討をMTTを用いた測定系により検討した。

その結果、ジ-*t*-ブチルGDは、最終濃度34μMまで明らかながん細胞増殖抑制活性を示した。さらに、光学顕微鏡観察において、アポトーシス小体が見られ、アポトーシス誘発が確認された。

(3) 56℃、30分間処理した牛胎児血清(JRH社製)を10%含むRPMI 1640培地(バイオウイタッカー社製)にて37℃で培養したHL-60をRPMI 1640培地にて 2.5×10^5 コ/5mlとなるように懸濁した。

この懸濁液5mlに対し、前記のヘキサノイルGM溶液(20mM トリス-塩酸緩衝液)及びジ-*t*-ブチルGD溶液(70%エタノール水溶液)を適宜希釈した溶液を10 μ l添加し、37℃、5%二酸化炭素存在下で、24時間培養した。また確認のためアポトーシスを誘発する試薬として知られているアクチノマイシンD(シグマ社製)の水溶液(0.5mg/ml)10 μ lを前述の試料の代わりに用いて同様の培養を行った。

培養細胞を光学顕微鏡下で観察し、試料、及びアクチノマイシンD添加培養細胞に核の凝縮、細胞の縮小、アポトーシス小体の形成をそれぞれ確認した。なお対照の生理食塩水あるいは70%エタノール10 μ l添加培養細胞においてはこれらの現象は認められなかった。

さらに、上記と同様の方法で24時間培養した細胞を一部サンプリングし、0.4% トリパンブルーで染色後、光学顕微鏡で観察し、染色されていない生細胞と青く染色された死細胞の細胞数の測定を行い、生残率が50%になる各サンプルの濃度(生残率 $_{50}$ μ M)を求めた。その結果、ヘキサノイルGMの生残率 $_{50}$ は9.22 μ M、ジ-*t*-ブチルGDの生残率 $_{50}$ は46.3 μ Mであった。

上記と同様の方法で培養した細胞を用い、細胞工学別冊実験プロトコールシリーズアポトーシス実験プロトコール(秀潤社)129-130ページ記載の方法でFACSscanを用いたアポトーシス細胞の測定とバイオマニュアルUPシリーズ 最新アポトーシス実験法(羊土社)61-63ページ記載の方法でDNAの断片化の解析を行った。その結果、試料、及びアクチノマイシンD添加培養細胞にアポトーシス細胞とDNAの断片化を確認した。なお対照の生理食塩水あるいは70%エタノール10 μ l添加培養細胞においてはこれらの現象は認められなかった。

実施例3

(1) トポイソメラーゼII [トポジェン(TopoGEN)社製、2単位/ μ l] 2 μ l、10倍濃度緩衝液[0.5M Tris-HCl (pH8.0)、

1. 2M KCl、0.1M MgCl₂、5mM アデノシン三リン酸、5mM ジチオスレイトール] 2μl、0.1% ウシ血清アルブミン（宝酒造社製） 2μl、蒸留水 11μl 及び対照の蒸留水又は水で様々な濃度に調製したヘキサノイルGM 2μlを混合したものに、0.25μg/μl pBR322 DNA（宝酒造社製） 1μlを添加して37℃で反応させた。30分間反応後、1% ドデシル硫酸ナトリウム、50% グリセロール、0.02% プロモフェノールブルー水溶液 2μlを添加して反応を停止した。

アガロースL03（宝酒造社製）とTAE緩衝液[40mM Tris、5mM 酢酸ナトリウム、1mM エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、酢酸でpH7.8に調整]を用いて作製した1% アガロースゲルに上記反応液 20μlをアプライし、TAE緩衝液中で電気泳動を行った。泳動後、ゲルを1μg/ml エチジウムブロミド水溶液に浸漬し、紫外線を照射してDNA電気泳動パターンを観察した。なお、水添加の対照ではDNAが超らせん型から弛緩型に完全に变化するが、トポイソメラーゼII活性が阻害されると超らせん型から弛緩型への変化が一部又は完全に阻害される。

その結果、水添加の対照ではDNAが超らせん型から弛緩型に完全に变化したが、100μM以上のヘキサノイルGMによってDNAの超らせん型から弛緩型への変化が一部又は完全に阻害され、ヘキサノイルGMのトポイソメラーゼII阻害活性が確認された。

（2）実施例3-（1）と同様の方法でヘキサノイルGMのトポイソメラーゼI阻害活性を測定した。但し、トポイソメラーゼIIの代わりにトポイソメラーゼI [トポジェン社製、0.01単位/μl]、10倍濃度緩衝液として100mM Tris-HCl（pH7.9）、10mM EDTA、1mM スペルミン、50% グリセロールを用いた。

その結果水添加の対照ではDNAが超らせん型から弛緩型に完全に变化したが、1000μM以上のヘキサノイルGMによってDNAの超らせん型から弛緩型への変化が一部阻害され、試料ヘキサノイルGMのトポイソメラーゼI阻害活性が確認された。

以上、ヘキサノイルGMは、正常細胞では分裂期のみに一過的に発現している

が、がん化により全細胞周期を通じて高発現するようになるトポイソメラーゼII
に対し、がん化により発現量や活性が増大するトポイソメラーゼIに対するより
も選択的な阻害活性を示した。

実施例 4

5 注射剤

生理食塩液（日本薬局方収載品）にヘキサノイルGMを0.1%濃度で加え注
射剤を作製した。

錠剤

10 ジー t - ブチルGDの100mgと微結晶性セルロースの適量とを含有する錠
剤を調製し、糖衣を施し、錠剤を作製した。

軟膏

ヘキサノイルGM 1 g

吸水軟膏（日本薬局方収載） 99 g

15 上記ヘキサノイルGMをまず少量の吸水軟膏と十分に練り合せ、次いで残った
吸水軟膏を徐々に加えて均一になるまで練り合せて軟膏を作製した。

この軟膏は1日4～5回患部に塗布される。

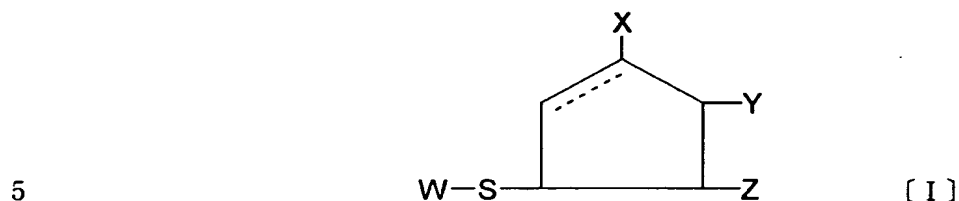
20 以上記載したごとく、本発明により制がん作用、がん細胞増殖抑制作用、アポ
トーシス誘発作用等の種々の生理活性を有する特定の5員環化合物若しくはその
光学活性体又はそれらの塩が提供され、かつ、これらの化合物から選択される少
なくとも1つの化合物を有効成分として含有する医薬が提供される。該医薬はこ
れらの化合物に感受性を示す疾患の治療剤又は予防剤として有用であり、特に制
がん剤等として有用である。

25 また、本発明により、食品又は飲料中に生理活性を有する本発明の化合物若し
くはその光学活性体又はそれらの塩の適量を含有させることが可能となった。こ
れらの化合物が有する種々の生理活性、制がん作用、アポトーシス誘発作用等によ
って、本発明により提供される食品又は飲料は発がん予防効果、制がん効果、
アポトーシス誘発作用等の生体の恒常性（ホメオスタシス）維持機能を有する健
康食品又は飲料であり、本発明により、胃腸健康保持に有用な機能性物質入りの

食品又は飲料が提供される。

請 求 の 範 囲

1. 式 [I] :



[式中、5員環内の点線で示した結合子は、当該5員環が、二重結合を有するシクロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいことを意味する。そして、シクロペンテン環の場合、Xは OR_1 、Yは $=O$ 、ZはHであり、他方シクロペンタン環の場合、Xは $=O$ 、Yは OR_2 、Zは OR_3 であり、 R_1 は R_4 、又は $-(CO)-R_5$ 、 R_2 はH、 R_6 、又は $-(CO)-R_7$ 、 R_3 はH、 R_8 、又は $-(CO)-R_9$ (R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_5 、 R_7 、 R_9 はHでも良い) を意味する。但し、 $R_2=R_3=H$ の場合を除く。また、WはSH基含有化合物からSH基を除いた残基である。]

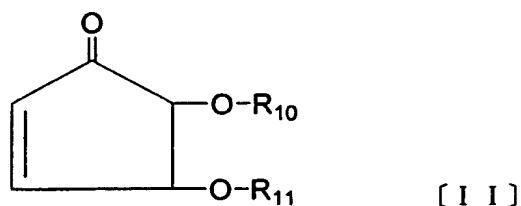
15 で表される5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩。

2. 請求項1記載の5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される少なくとも1つの化合物を有効成分として含有することを特徴とする医薬。

3. 制がん剤である請求項2記載の医薬。

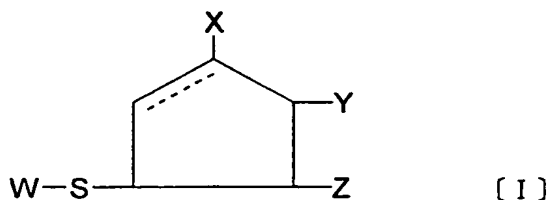
20 4. アポトーシス誘発剤である請求項2記載の医薬。

5. 式 [II] :



〔式中、 R_{10} はH、 R_{12} 、又は $-(CO)-R_{13}$ 、 R_{11} はH、 R_{14} 、又は $-(CO)-R_{15}$ (R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_{13} 、 R_{15} はHでも良い) を意味する。但し、 $R_{10}=R_{11}=H$ の場合を除く。〕

- 5 で表される化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩から選択される化合物と、SH基含有化合物とを反応させることを特徴とする式〔I〕：

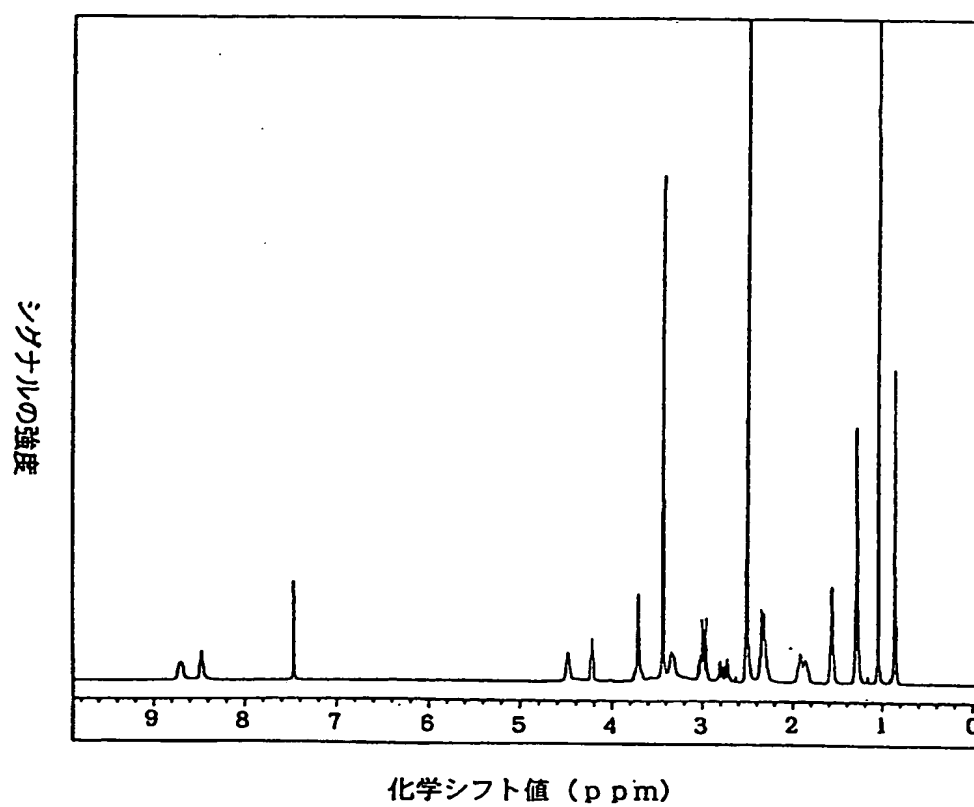


- 10 〔式中、5員環内の点線で示した結合子は、当該5員環が、二重結合を有するシクロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいことを意味する。そして、シクロペンテン環の場合、Xは OR_1 、Yは $=O$ 、ZはHであり、他方シクロペンタン環の場合、Xは $=O$ 、Yは OR_2 、Zは OR_3 であり、 R_1 は R_4 、又は $-(CO)-R_5$ 、 R_2 はH、 R_6 、又は $-(CO)-R_7$ 、 R_3 はH、 R_8 、又は $-(CO)-R_9$ (R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_5 、 R_7 、 R_9 はHでも良い) を意味する。但し、 $R_2=R_3=H$ の場合を除く。また、WはSH基含有化合物からSH基を除いた残基である。〕
- 15

で表される5員環化合物若しくはその光学活性体又はそれらの塩の製造方法。

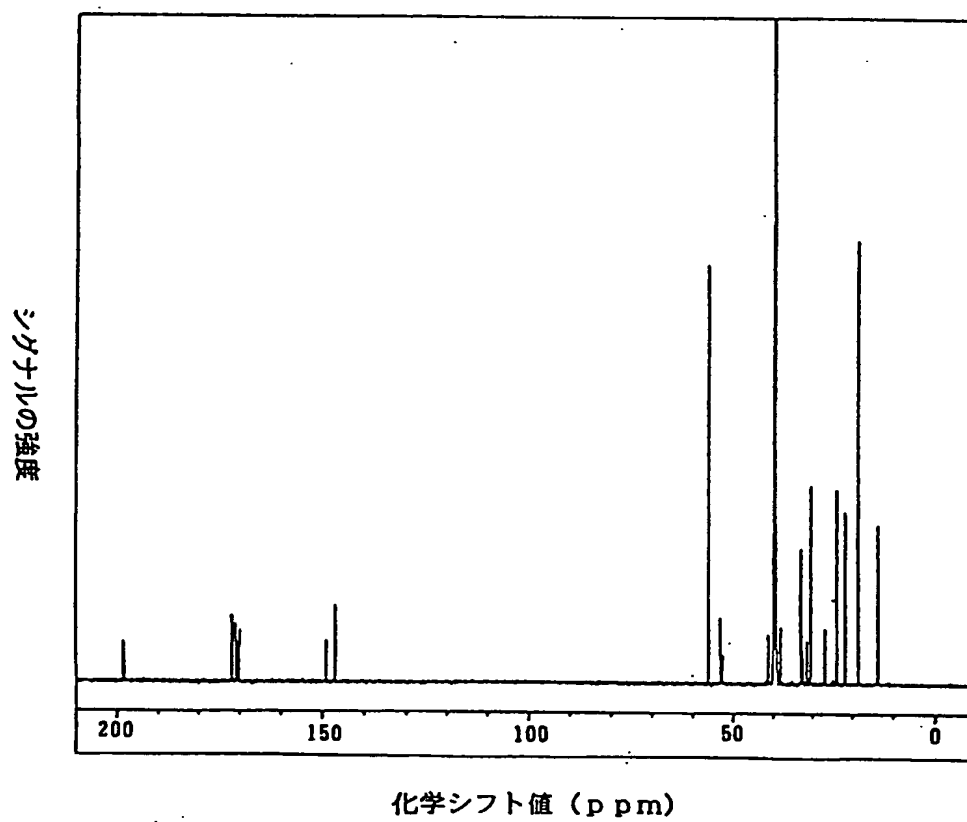
1/7

図 1



2/7

図 2



3/7

図 3

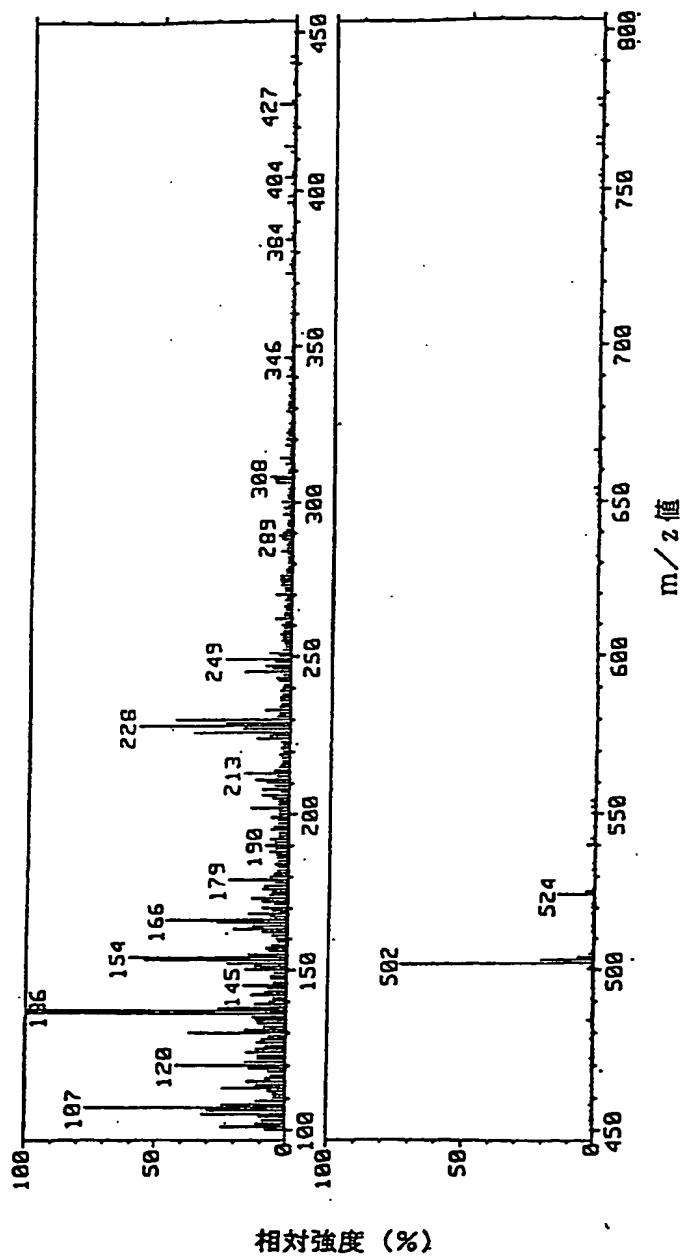
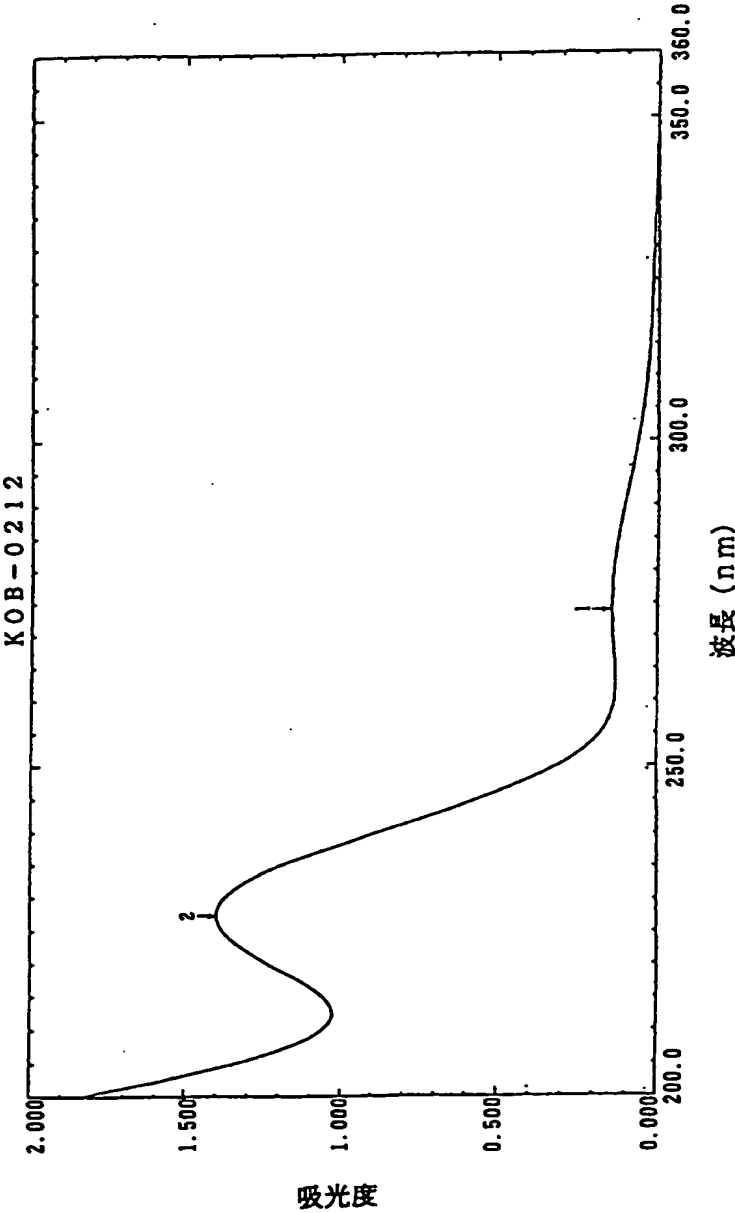


図 4



5/7

図 5

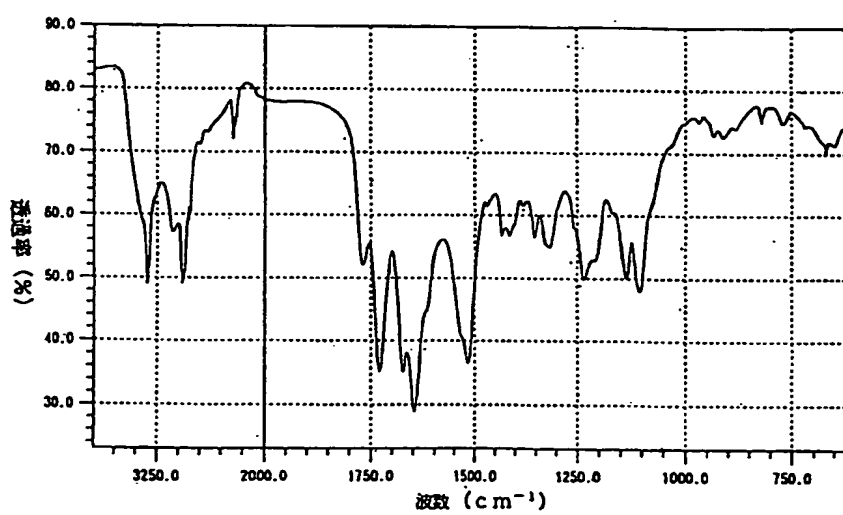
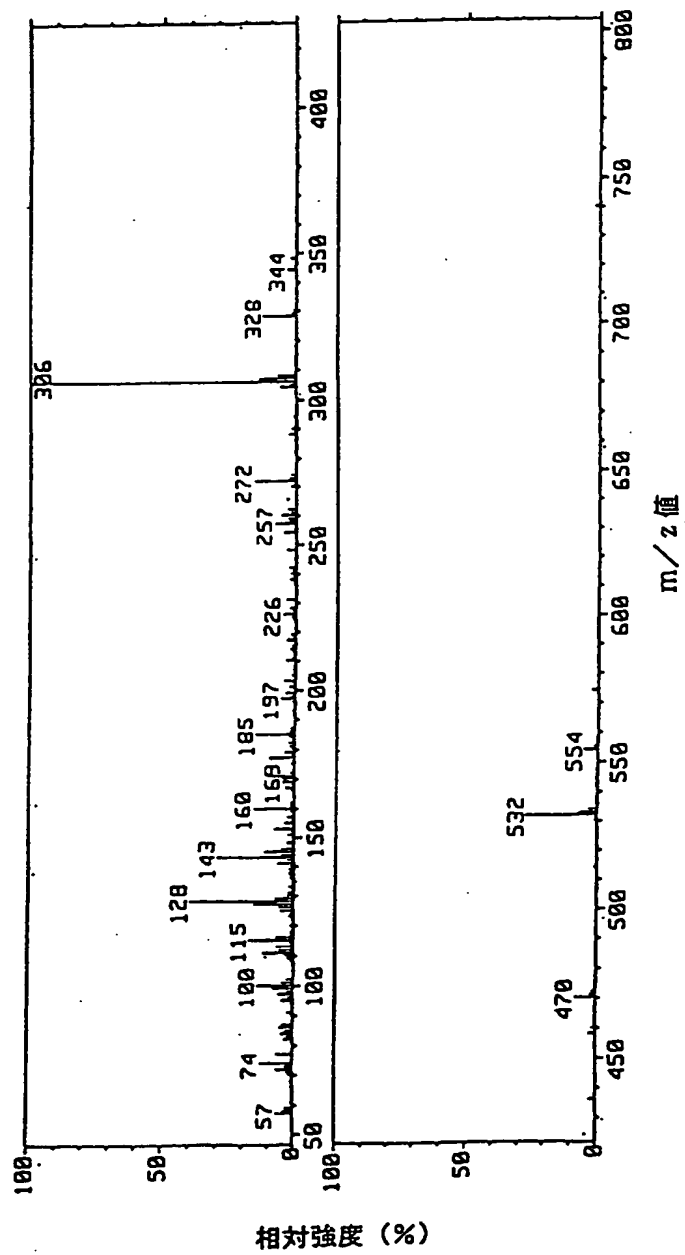
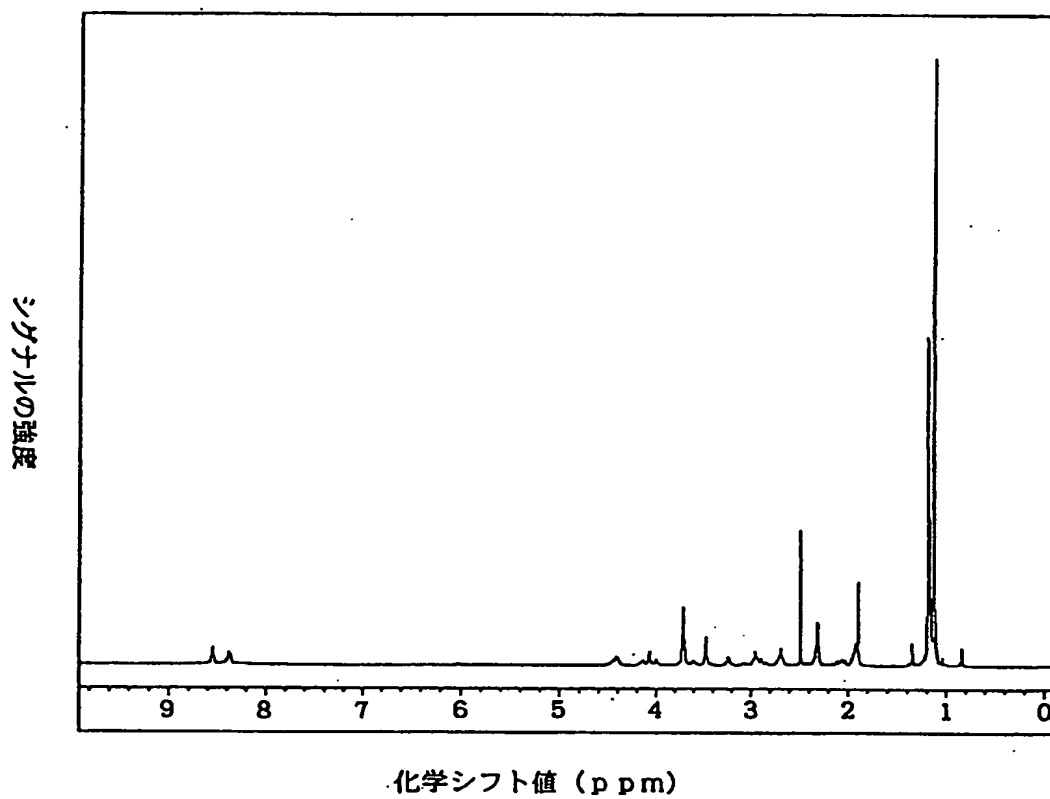


図 6



7/7

図 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/04324

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ C07K5/027, 1/02, C07C323/60, 319/18, A61K31/195

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ C07K5/00, 1/02, C07C323/60, 319/18, A61K31/195

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, A	WO, 98/39291, A1 (Takara Shuzo Co., Ltd.), 11 September, 1998 (11.09.98), Claims; examples & AU, 9861175, A	1-5
A	Miyaguchi Shingo et al., "Relationship Between α -mannosidase and natural killer activity and glycopeptides of peripheral blood mononuclear cells in patients with liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma." Keio Igaku, Vol. 69(2), p.335-346 (1992)	1-5
A	JP, 5-310685, A (Teijin Limited), 22 November, 1993 (22.11.93), Claims; examples (Family: none)	1-5
A	JP, 10-45618, A (Morinaga Milk Ind. Co., Ltd.), 17 February, 1998 (17.02.98), Claims; examples (Family: none)	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 02 November, 1999 (02.11.99)	Date of mailing of the international search report 16 November, 1999 (16.11.99)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 99/04324

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C07K5/027, 1/02, C07C323/60, 319/18, A61K31/195

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C07K5/00, 1/02, C07C323/60, 319/18, A61K31/195

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN), BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, A	WO, 98/39291, A1 (寶酒造株式会社), 11. 9月. 1998 (11. 09. 98), 特許請求の範囲及び実施例参照, & AU, 9861175, A	1-5
A	MIYAGUCHI Shingo et al., "Relationship between α -mannosidase and natural killer activity and glycopeptides of peripheral blood mononuclear cells in patients with liver cirrhosis or hepatocellular carcinoma." Keio Igaku, Vol. 69 (2), p. 335-346 (1992)	1-5
A	JP, 5-310685, A (帝人株式会社), 22. 11月. 1993 (22. 11. 93), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-5
A	JP, 10-45618, A (森永乳業株式会社), 17. 2月. 1998 (17. 02. 98), 特許請求の範囲及び実施例参照, (ファミリーなし)	1-5

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 11. 99

国際調査報告の発送日

16.11.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂崎 恵美子 印

4 N

9451

電話番号 03-3581-1101 内線 3488